



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

**Facultad de Ciencias Biológicas**

**Escuela Profesional de Ciencias Biológicas**

**Aplicación del código de barras de ADN en la  
identificación de insectos fitófagos asociados al cultivo  
de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) en Perú**

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de Biólogo con mención en  
Zoología

**AUTOR**

**Nilver Jhon ZENTENO GUILLERMO**

**ASESOR**

**Dra. Diana Fernanda SILVA DÁVIL**

Lima, Perú

2019



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

## Referencia bibliográfica

---

Zenteno, N. (2019). *Aplicación del código de barras de ADN en la identificación de insectos fitófagos asociados al cultivo de quinua (Chenopodium quinoa Willd.) en Perú*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela Profesional de Ciencias Biológicas]. Repositorio institucional Cybertesis UNMSM.

---



**Universidad Nacional Mayor De San Marcos**  
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**ACTA DE SESIÓN PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE  
BIÓLOGO CON MENCIÓN EN ZOOLOGÍA  
(MODALIDAD: SUSTENTACIÓN DE TESIS)**

Siendo las 15:41 horas del 07 de junio de 2019, en el Salón de Grados de la Facultad de Ciencias Biológicas y en presencia del jurado formado por los profesores que suscriben, se dio inicio a la sesión para optar al Título Profesional de Biólogo con mención en **Zoología** de **NILVER JHON ZENTENO GUILLERMO**.

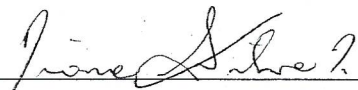
Luego de dar lectura y conformidad al expediente N° **004-EPCB-2019**, el titulando expuso su tesis: **“APLICACIÓN DEL CÓDIGO DE BARRAS DE ADN EN LA IDENTIFICACIÓN DE INSECTOS FITÓFAGOS ASOCIADOS AL CULTIVO DE QUINUA (*Chenopodium quinoa* Willd.) EN PERÚ”**, y el Jurado efectuó las preguntas del caso calificando la exposición con la nota 17, calificativo: Aprobado con mención honrosa.

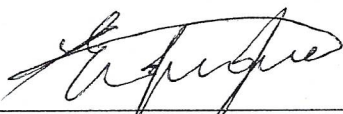
Finalmente, el expediente será enviado a la Escuela Profesional de Ciencias Biológicas y al Consejo de Facultad para que se apruebe otorgar el Título Profesional de Biólogo con mención en **Zoología** a **NILVER JHON ZENTENO GUILLERMO** y se eleve lo actuado al Rectorado para conferir el respectivo título, conforme a ley.

Siendo las 16:45 horas se levantó la sesión.

Ciudad Universitaria, 07 de junio de 2019.

  
Dra. MONICA ARAKAKI MAKISHI  
(PRESIDENTA)

  
Dra. DIANA SILVA DAVILA  
(ASESORA)

  
Blga. ELIANA QUISPITUPAC QUISPITUPAC  
(MIEMBRO)

  
Blgo. MAX HIDALGO DEL AGUILA  
(MIEMBRO)

## DEDICATORIA

A mis padres, Juan Clemente Zenteno Rodriguez y Leyda Eddy Guillermo Chávez por su apoyo incondicional y cariño a lo largo de esta aventura en mi vida. Jamás terminaré de agradecerles por todo.

## AGRADECIMIENTOS

La vida me ha dado muchas cosas durante mi breve permanencia en este planeta, cosas para las cuales, unas cuantas palabras no bastarán para poder expresar cuan agradecido estoy.

En primera instancia quiero dar gracias a mis padres Juan y Leyda y a mis hermanos Dennis y Jhovani por todo su cariño y apoyo.

A mi asesora de tesis, la Dra. Diana Silva Dávila por su gran paciencia durante toda la etapa desde el proyecto hasta la tesis concluida.

Al proyecto PNIA N° 038-2015-INIA-PNIA/UPMSI/IE “Optimización de la identificación de plagas entomológicas en cultivos de importancia económica mediante código de barras de ADN y construcción de base de datos” por el financiamiento que hizo posible el presente estudio.

A la Dra. Ida Bartolini, al Blgo. Arturo Olortegui, y a la Blga. Rosalyn Acuña por su ayuda y guía en los procesamientos moleculares de las muestras de especímenes en el laboratorio de Biología Molecular de la Unidad del Centro de Diagnóstico de Sanidad Vegetal del Servicio Nacional de Sanidad Agraria.

A la empresa *Solid Food Peru*, a la cooperativa COPAIN CABANA, a la Comunidad Campesina de Sicaya, a la Dirección Regional de Agricultura de Cajamarca, y a la empresa FARMEX por su apoyo en la comunicación con los dueños de los cultivos y por el traslado a la ubicación de los mismos durante toda la etapa de colecta.

Al Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre (SERFOR) por la autorización de colecta de especímenes fuera de áreas naturales protegidas.

## INDICE

I.	INTRODUCCIÓN .....	1
II.	MARCO TEÓRICO.....	3
2.1.	TÉCNICA DE CÓDIGO DE BARRAS DE ADN E IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES .....	3
2.1.1.	EFICACIA DEL CÓDIGO DE BARRAS DE ADN EN LA IDENTIFICACIÓN DE INSECTOS PLAGAS .....	4
2.1.2.	IMPLICACIONES EN LA APLICACIÓN DEL CÓDIGO DE BARRAS DE ADN EN LA IDENTIFICACIÓN DE INSECTOS .....	7
2.2.	QUINUA: SUPER ALIMENTO PARA EL MUNDO .....	13
2.2.1.	PLAGAS DE LA QUINUA .....	14
2.2.2.	INTEGRACIÓN DE LOS INSECTOS DE LA QUINUA EN BOLD.....	15
III.	HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	16
3.1.	HIPÓTESIS.....	16
3.2.	OBJETIVOS.....	17
3.2.1.	OBJETIVO GENERAL.....	17
3.2.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
IV.	MATERIALES Y MÉTODOS .....	17
4.1.	MÉTODOS DE CAMPO .....	17
4.1.1.	ÁREA DE ESTUDIO .....	17
4.1.2.	MUESTREO BIOLÓGICO .....	19
4.2.	MÉTODOS DE LABORATORIO .....	21
4.2.1.	EXAMEN MORFOLÓGICO .....	21
4.2.1.1.	MONTAJE DE ESPECÍMENES.....	21
4.2.1.2.	DETERMINACIÓN TAXONÓMICA DE ESPECÍMENES.....	21
4.2.2.	PROCESAMIENTO MOLECULAR DE ESPECÍMENES.....	22
4.3.	ANÁLISIS BIOINFORMÁTICOS .....	25
4.3.1.	EDICIÓN DE SECUENCIAS .....	25
4.3.2.	ELECCIÓN DE CONJUNTO DE SECUENCIAS.....	26
4.3.3.	DIAGNÓSTICO DE TAXA MEDIANTE CÓDIGO DE BARRAS DE ADN .....	26
4.3.4.	EVALUACIÓN DE IDENTIFICACIÓN DE INSECTOS POR CÓDIGO DE BARRAS DE ADN .....	27
V.	RESULTADOS.....	29
VI.	DISCUSIÓN .....	40
VII.	CONCLUSIONES .....	43

VIII. RECOMENDACIONES .....	44
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	44
X. ANEXOS .....	60



## RESUMEN

Las especies son las unidades fundamentales en los estudios biológicos y pueden ser definidas en base a varios criterios operacionales. En el campo de la agricultura, es fundamental la rápida identificación de los insectos plagas presentes en los cultivos, sin embargo, estos insectos ocurren en diferentes estadios de desarrollo por lo que la determinación a nivel de especie por la taxonomía tradicional es lenta. Por consiguiente, se hace necesario el uso de técnicas que aceleren y complementen los enfoques de la taxonomía tradicional. En el presente estudio se construyó la primera biblioteca de código de barras de ADN para 66 especies de insectos fitófagos asociados al cultivo de quinua. Se analizaron un total de 4168 secuencias de la región mitocondrial COI para insectos colectados en los departamentos de Arequipa, Ayacucho, Cajamarca, Junín, y Puno, las cuales se registraron en la base de datos de BOLD. La eficacia de identificación se evaluó mediante tres métodos: *Best match* (BM), *Best close match* (BCM) y el criterio de BOLD (CB). Esta biblioteca incluye 22 nuevos registros de insectos fitófagos de la quinua, de entre estos, se tiene al lepidóptero de la familia Noctuidae *Helicoverpa armígera*, una plaga polífaga de importancia económica a nivel mundial y cuya regulación es catalogada como de suma prioridad por las principales agencias de control de plagas cuarentenarias.

El resultado del análisis de los métodos de identificación mostró una tasa de éxito mayor al 99% para identificaciones correctas, porcentaje de éxito que muestra el poder discriminatorio del código de barras de ADN. Respaldado en los resultados de este estudio, la biblioteca de insectos fitófagos asociados a cultivos de quinua puede ser usada como base en la implementación de procedimientos rápidos y precisos para la identificación de insectos plagas de importancia agrícola y económica en este tipo de cultivos utilizando la herramienta del código de barras de ADN.

Palabras clave: agroecosistemas, lepidoptera, insectos plagas, *Helicoverpa*, BOLD

## ABSTRACT

Species are the fundamental units in biological studies and can be defined based on several operational criteria. In the field of agriculture, the rapid identification of insect pests present in crops is essential, however, these insects occur at different stages of development so that the determination at the species level by traditional taxonomy is slow. Therefore, it is necessary to use techniques that accelerate and complement traditional taxonomy approaches. With the present study, the first DNA barcode library was built for 66 species of phytophagous insects associated with the cultivation of quinoa. A total of 4168 sequences from the mitochondrial COI region were analysed for insects collected in the regions of Arequipa, Ayacucho, Cajamarca, Junín, and Puno, which were recorded in BOLD. The identification efficiency was evaluated by three methods: Best match (BM), Best close match (BCM) and BOLD criterion (CB). This library includes 22 new records of phytophagous insects of quinoa, among them, we have the lepidoptera of the Noctuidae family *Helicoverpa armígera*, a polyphagous pest of economic importance worldwide and whose regulation is listed as a top priority by the main agencies of quarantine pests control.

The result of the analysis of the identification methods showed a success rate greater than 99% for correct identifications, percentage of success that shows the discriminatory power of the DNA barcode. Supported in the results of this study, the phytophagous insect library associated with quinoa crops can be used as a baseline in the implementation of fast and accurate procedures for the identification of pest insects of agricultural and economic importance by using the DNA barcode tool.

Keywords: agroecosystems, lepidoptera, pests, *Helicoverpa*, BOLD

## I. INTRODUCCIÓN

Los insectos son el grupo más grande y más diverso de organismos en la tierra, con más de 1 millón de especies descritas, cifra que representa cerca del 65 % de las especies del reino animal (Zhang, 2013a; Zhang, 2013b). Su diversidad biológica y riqueza de especies hacen a los insectos agentes claves en el funcionamiento de casi cualquier ecosistema terrestre (Kim, 1993; Scudder, 2017) pues participan activamente en procesos como el de la herbivoría, polinización, descomposición, y también en el control biológico de plagas en los agroecosistemas (Chowdhury *et al.*, 2017; Heraty, 2017; Scudder, 2017; Jankielsohn, 2018; Schowalter *et al.*, 2018).

Se estima que cerca del 50% de los insectos son herbívoros, y, de ellos, menos del 0.5% del número total de las especies de insectos conocidas se consideran plagas; sin embargo, a pesar del bajo porcentaje, estas plagas son responsables de la pérdida del 18% de la producción agrícola mundial anual (Jankielsohn, 2018). Para disminuir tales pérdidas, se intenta controlar las poblaciones de estos insectos mediante métodos biológicos o químicos, siendo este último el más ampliamente empleado con un monto estimado en gastos de más de 15 billones de dólares americanos en uso de insecticidas (Kew, 2017). Es muy difícil y menos efectivo combatir a los insectos plaga si no se sabe exactamente qué son, por lo tanto, la identificación adecuada es un paso crítico muy importante para implementar medidas efectivas de control (Yang *et al.*, 2015).

Para la identificación de especies, el ser humano se ha valido tradicionalmente de la taxonomía convencional basada principalmente en caracteres morfológicos de especímenes adultos, lo que demanda muchas horas y un arduo esfuerzo por parte del taxónomo y muy a menudo las identificaciones tardan demasiado o no es posible hacerlo con precisión (Ball y Armstrong, 2006; Riedel *et al.*, 2013; Sethusa *et al.*, 2014), por lo que se hace necesario el uso de otros enfoques integrativos que complementen y/o aceleren la adecuada identificación taxonómica (Okiwelu y Noutcha, 2014). En este sentido, un apoyo fundamental han sido las herramientas moleculares, entre las que se destaca el desarrollo del código de barras de ADN, técnica que, para el caso de

animales, utiliza fragmentos cortos de regiones específicas y estandarizadas del gen mitocondrial Citocromo c Oxidasa I (COI) (Hebert *et al.*, 2003a; Hebert *et al.*, 2003b). Como tal, se ha conformado el *Consortium for the Barcode of Life* (CBOL) que es una iniciativa internacional dedicada al desarrollo de códigos de barras de ADN como un estándar global para la identificación de especies biológicas. CBOL tiene más de 130 organizaciones miembros correspondientes a más de 40 países, y Perú, siendo uno de los países con mayor biodiversidad a nivel mundial, también es integrante de este consorcio; es así que la iniciativa del *Peruvian Barcode of Life* (PEBOL) está construyendo una biblioteca de códigos de barras de ADN para la flora y fauna peruana. Existen muchos estudios que usan el código de barras de ADN orientados principalmente a grupos de insectos de importancia evolutiva, médica, forense, y agrícola, respaldando su utilidad en la identificación confiable y rápida de las especies de insectos (Ball y Armstrong, 2006; Chown *et al.*, 2008; Nagoshi *et al.*, 2011; Blacket *et al.*, 2012; Khamis *et al.*, 2012; Shin *et al.*, 2014; Karthika *et al.*, 2016; Mitchel y Gopurenko, 2016); sin embargo, esta técnica basada en códigos de barras de ADN, requiere de una biblioteca molecular muy bien curada (con especies muy bien identificadas) que sirva de referencia para comparar los resultados del análisis ya que no siempre esta técnica puede detectar diferencias entre especies, lo que puede llevar a resultados controversiales (Brower, 2006; Kwong *et al.*, 2012; Taylor y Harris, 2012; Kvist, 2013).

En el Perú, uno de los cultivos de gran importancia alimenticia es la quinua, dicho cultivo presenta un gran número de plagas que necesitan ser determinadas para un adecuado control. En tal sentido, en este estudio se propone construir una referencia digital de códigos de barras de ADN de los insectos que afectan a este cultivo y evaluar la confiabilidad de dicha técnica como un método de identificación rápida.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. TÉCNICA DE CÓDIGO DE BARRAS DE ADN E IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES

Miles de especies de artrópodos atacan directamente plantas económicamente importantes o transmiten enfermedades virales y bacterianas, imponiendo costos masivos a la agricultura y la silvicultura. Por ejemplo, la polilla *Plutella xylostella* Linnaeus 1758, ampliamente distribuida, cada año causa daños a los cultivos por un valor aproximado de 4 a 5 billones de dólares americanos (Zalucki *et al.*, 2012). Las pérdidas económicas debidas a los artrópodos aumentan a medida que las nuevas especies adquieren el *estatus* de plaga, a menudo después de expansiones de rango mediadas por el hombre que, en ausencia de enemigos naturales (Liebhold *et al.*, 2013), pueden conducir a explosiones de población que mueven a una especie que en su rango nativo no es una plaga a que si lo sea en áreas recién colonizadas (Aukema *et al.*, 2011). El número de especies exóticas sigue aumentando y los artrópodos representan el componente dominante de este tráfico transfronterizo, por ejemplo, en Europa, según lo documentado por la Agencia Europea de Medio Ambiente ([www.eea.europa.eu](http://www.eea.europa.eu)). Cinco bases de datos principales se encargan de rastrear a las plagas de artrópodos y vectores de enfermedades más importantes de la agricultura y la silvicultura; estas bases son mantenidas por la Agencia Canadiense de Inspección de Alimentos (CFIA), la Organización Europea y Mediterránea de Protección de Plantas (EPPO), la Base de Datos Mundial de Especies Invasoras (GISD), el Sistema Nacional de Información de Plagas Agrícolas (NAPIS), y el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos - Servicio de Inspección de Sanidad Animal y Vegetal (USDA-APHIS). Estas bases de datos, que incluyen plagas de plantas reguladas, invasoras y económicamente importantes con un enfoque en especies importantes en Europa y América del Norte, se han utilizado para compilar listas de plagas unificadas (Frewin *et al.*, 2013). De todas las especies de plagas de artrópodos en las cinco bases de datos, 476 especies pertenecen a siete órdenes de insectos (Coleoptera, Diptera, Hemiptera, Hymenoptera,

Lepidoptera, Orthoptera, Thysanoptera), sin embargo, sólo algunas de estas especies se encuentran registradas en el *Barcode of Life Data Systems* (BOLD) (Ratnasingham y Hebert, 2007) (Tabla 1). Las dificultades taxonómicas pueden restringir la regulación de los insectos plagas, pues algunas de las entradas en estas listas solo se identifican a nivel de género, mientras que algunas otras con una designación de especie son un complejo de especies (Mally *et al.*, 2015). Estas complejidades taxonómicas han provocado un interés creciente en la adopción de enfoques basados en el ADN para el reconocimiento de especies, creando desafíos interesantes para los enfoques tradicionales de cumplimiento normativo (Jörger y Schrödl, 2013).

Tabla 1: Registro de especies de insectos plagas reguladas en BOLD, *Barcode of Life Data Systems* (Acceso: 20 de abril de 2017).

ORDEN	Especies Plagas	Especies con secuencias en BOLD (Con único registro)	Especies con único BIN	Especies con más de un BIN	Especies sin BIN
Coleoptera	182	130 (7)	77	44	9
Diptera	48	44	23	20	1
Hemiptera	76	53 (6)	26	20	7
Hymenoptera	31	26 (2)	8	16	2
Lepidoptera	121	111(7)	71	39	1
Orthoptera	4	2	0	2	0
Thysanoptera	14	11	2	9	0
Total	476	377 (22)	207	150	20

BIN: *Barcode Index Number*

#### 2.1.1. EFICACIA DEL CÓDIGO DE BARRAS DE ADN EN LA IDENTIFICACIÓN DE INSECTOS PLAGAS

La eficacia del código de barras de ADN para la identificación de especímenes y el descubrimiento de especies ha estimulado un programa de investigación internacional que ha generado una biblioteca de referencia de códigos de barras para más de 283 mil especies de animales, hongos y plantas descritas, datos que residen en BOLD (Ratnasingham y Hebert, 2007). Cada uno de los 5 millones de registros de animales en BOLD se ha asignado a un BIN, *Barcode Index Number* (Ratnasingham y Hebert, 2013),

de los 446 340 BIN registrados la gran mayoría corresponden predominantemente a insectos (343 471 BIN) (consultado el 10 de noviembre de 2018). Dado que los BIN muestran una gran congruencia con las especies designadas a través de estudios morfológicos pasados, se pueden ver como representantes de las especies (Telfer *et al.* 2015) para facilitar la evaluación de patrones de biodiversidad a gran escala (Blagoev *et al.*, 2016) y la detección de complejos de especies crípticas (Kekkonen y Hebert, 2014; Ashfaq *et al.*, 2015). El uso de datos de códigos de barras de ADN para identificar especies (Rakauskas y Basilova, 2013) requiere que las especies en cuestión estén representadas en la biblioteca de referencia de códigos de barras (Ekrem *et al.*, 2007).

El código de barras del ADN tiene un sólido historial en la entrega de identificaciones a nivel de especie para los cinco órdenes de insectos (Coleoptera, Diptera, Hemiptera, Lepidoptera, Thysanoptera) con la mayoría de las especies de plagas: Por ejemplo, más del 92% de las especies de escarabajos europeos se asignaron a un BIN distinto que coincidió con una especie morfológica conocida, mientras que la mayoría de las otras especies se asignaron a dos o tres BIN, lo que sugiere que representan complejos de especies crípticas (Hendrich *et al.*, 2015). El trabajo en Diptera ha validado de manera similar la efectividad del código de barras de ADN para la identificación de especies en este orden, incluidas algunas de las plagas agrícolas más importantes, como las moscas de la fruta (Virgilio *et al.*, 2012) y los minadores de hojas (Amin *et al.*, 2014). Otro estudio que examinó 1849 especies de hemípteros canadienses asignó estas especies a 1867 BIN con una alta correspondencia entre las especies y los BIN, pero también reveló 27 especies con altas divergencias sugestivas de complejos de especies crípticas (Gwiazdowski *et al.*, 2015). Los lepidópteros, el orden más estudiado, están representados por más de 113 000 BIN en BOLD. El trabajo en este grupo ha demostrado la eficacia del código de barras de ADN en la identificación de especies conocidas y en la revelación de complejos de especies crípticas (Burns *et al.*, 2008; Wilson *et al.*, 2013; Huemer *et al.*, 2014; Dinca *et al.*, 2015). También ha demostrado

que existe una variación geográfica muy limitada en las secuencias de códigos de barras en las poblaciones de la mayoría de las especies, por lo que el aumento de la escala geográfica no reduce el éxito de la identificación de las especies (Candek y Kuntner, 2015). Sin embargo, en ciertos grupos, como los escarabajos de la tribu Agabini (Bergsten *et al.*, 2012), la correlación entre las distancias genéticas y geográficas es lo suficientemente fuerte como para impactar el éxito de la identificación de especies, a menos que el muestreo de cada especie sea bastante completo. Los estudios sobre lepidópteros han demostrado además la forma en que el código de barras del ADN puede desafiar los límites taxonómicos actuales, puede cambiar la comprensión de las distribuciones (Rougerie *et al.*, 2014) y puede exponer el uso inconsistente de nombres de especies (Mutanen *et al.*, 2012). Finalmente, el trabajo en Lepidoptera ha confirmado que los BIN son un fuerte sustituto de las especies. Por ejemplo, el 93% de 215 especies de polillas europeas de la familia Geometridae mostraron una correspondencia perfecta entre BIN y especies conocidas (Hausmann *et al.*, 2013).

Una búsqueda en BOLD (20 de abril de 2017) reveló una cobertura de secuencia para el 79% (377 de 476) de las especies de insectos plagas reguladas (Tabla 1). La cobertura para las especies de Lepidoptera (91.7%) y Diptera (91.6%) fue mayor que la de Coleoptera (71.4%) y Hemiptera (69.7%). Todas menos 20 de estas 377 especies poseían al menos una secuencia que cumple con el código de barras (> 500 pb, <1% de bases ambiguas, sin codón de parada o contaminación) y el 39.78% (150 de 377) de las especies mostraron al menos una división de BIN, lo que sugiere que representan un complejo de especies. Sin embargo, no se puede descartar la posibilidad de que algunos de estos casos reflejen identificaciones erróneas o introgresión (Harrison y Larson, 2014) sin un estudio detallado caso por caso.

El código de barras del ADN algunas veces falla al distinguir especies muy cercanas, por ejemplo, no logró separar algunas especies congéneras de plagas importantes, como las moscas de la fruta *Bactrocera occipitalis* Bezzi, 1919 y *B. philippinensis*



(Delomen *et al.*, 2013). Otro estudio que examinó 193 especies de tefritidos no logró discriminar seis especies en el complejo de *Bactrocera dorsalis* (Jiang *et al.*, 2014). Esta discrepancia entre las asignaciones taxonómicas y los resultados del análisis por códigos de barras ADN provocó una reevaluación de su taxonomía, donde *Bactrocera invadens* y *B. papaya* fueron sinonimizados con *B. dorsalis* (Schutze *et al.*, 2015). Hay muchos otros casos en los que se han asignado especies de plagas en diferentes plantas a especies separadas cuando probablemente representan solo un taxón. Por ejemplo, las poblaciones de la "cochinilla del mango" en los árboles de mango en Pakistán se identificaron como *Drosicha mangiferae* Stebbing 1903 (Latif, 1949), mientras que las de los árboles forestales se asignaron a *D. stebbingi* (Gul *et al.*, 1997). Un estudio de código de barras (Ashfaq *et al.*, 2011), apoyado por los resultados de otras tres regiones genéticas, no reveló ninguna divergencia genética entre las cochinillas en el mango y otros seis árboles frutales y forestales, respaldando una sugerencia anterior de su sinonimia (Latif, 1949).

#### 2.1.2. IMPLICACIONES EN LA APLICACIÓN DEL CÓDIGO DE BARRAS DE ADN EN LA IDENTIFICACIÓN DE INSECTOS

Las especies crípticas tienen implicaciones importantes para los estudios taxonómicos, evolutivos y de biodiversidad, pero su presencia en taxones de plagas también tiene implicaciones económicas y reguladoras (Piffaretti *et al.*, 2013; Rebijith *et al.*, 2014). Varios estudios han considerado el impacto de las especies crípticas en el manejo de plagas, estrategias de monitoreo biológico, la detección de especies invasoras e inspecciones de cuarentena (Frewin *et al.*, 2014; Ovalle *et al.*, 2014; Derocles *et al.*, 2015; Blacket *et al.*, 2015; Kang *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2015). Las implicaciones más resaltantes del código de barras de ADN se relacionan con su capacidad para discriminar a los miembros de complejos de especies crípticas (Robe *et al.*, 2013).

Los sistemas que emplean coincidencias de secuencia para identificar especímenes ya son una realidad (MacLeod *et al.* 2010), lo que permite la detección automatizada de especies reguladas (Lammers *et al.*, 2014). Por ejemplo, la mosca minadora de las hojas

*Liriomyza langei* Frick 1951 originaria de California, es morfológicamente indistinguible de la invasora *L. huidobrensis*. Sin embargo, las dos especies son fácilmente discriminadas por códigos de barras de ADN, un factor que permitió el análisis de sus distribuciones (Scheffer *et al.*, 2014). De manera similar, las larvas de *Camptomyia corticalis* Loew 1851 y *C. heterobia*, que causan daños severos en la producción de hongos *shiitake*, se separan fácilmente por su divergencia genética de 10,3% (Shin *et al.*, 2013). Los áfidos son plagas importantes a nivel mundial y principales vectores de muchas enfermedades de las plantas, pero son difíciles de identificar porque la mayoría de las más de 3000 especies en esta familia poseen una sorprendente plasticidad fenotípica y diversidad de vida. El código de barras del ADN ha demostrado ser una herramienta efectiva para la discriminación de especies porque la distancia intraespecífica es baja en la mayoría de las especies, con un promedio de solo 0.2%, mientras que las distancias congénéricas son altas (Footit *et al.*, 2008). Sin embargo, algunas especies, como *Neomyzus circumflexus* Buckton 1876, tienen divergencias más altas (> 3%), lo que sugiere que representan un complejo de especies crípticas. Las polillas Tussock (Lepidoptera: Lymantriidae) son plagas en todo el mundo que han sido bien estudiadas taxonómicamente. No obstante, los estudios de códigos de barras de ADN revelaron divergencias intraespecíficas profundas en *Lymantria dispar* Banderma 1924 (3.1%), *L. mathura* (4.7%) y *L. sinica* (2.9%) que sugieren la existencia de especies diferentes que son pasadas por alto. Igualmente, los resultados del código de barras del ADN generalmente son congruentes con aquellos derivados por estudios morfológicos tradicionales al identificar las mismas especies de trips (Qiao *et al.*, 2012).

El código de barras del ADN también está adquiriendo una amplia aplicación en los programas de manejo integrado de plagas (MIP) (Etzler *et al.*, 2014) y de monitoreo biológico (Jones *et al.*, 2013) como el método estándar para la identificación de especies al "comparar el desconocido con el conocido" (Armstrong, 2010). Esto se evidencia por

el desarrollo de *kits* basados en códigos de barras de ADN para la identificación de plagas cuarentenarias (Ye *et al.*, 2015). El MIP requiere la identificación correcta de las especies objetivo y el monitoreo de su efectividad a menudo involucra a diversas partes interesadas, incluidos agricultores, técnicos de plagas de cultivos y agentes de cuarentena. Siempre que los especímenes de "consulta" muestren una similitud de secuencia cercana a las especies en la biblioteca de referencia, las identificaciones basadas en el emparejamiento son efectivas (Hebert *et al.*, 2003b). Aunque la mayoría de las especies morfológicas muestran congruencia con los BIN (Tabla 1), las discordancias entre las especies morfológicamente reconocidas y los grupos genéticos discriminados por la técnica del código de barras de ADN no son infrecuentes. Estas discrepancias complican la identificación de sus taxones componentes con implicaciones para la regulación y el manejo de plagas. Por ejemplo, ahora se sabe que la mosca blanca, *Bemisia tabaci* Gennadius 1889, es un complejo de al menos 34 especies (Lee *et al.*, 2013) que difieren en su capacidad de invasión (De Barro y Ahmed, 2011), su capacidad para transmitir patógenos de plantas (Chowda- Reddy *et al.*, 2012), y su estado de plaga regional (Ashfaq *et al.*, 2014). Del mismo modo, dos plagas de insectos trips (Thysanoptera), *Scirtothrips dorsalis* Hood 1919 y *Thrips tabaci* Lindeman 1888, son complejos de especies cuyos miembros varían en su capacidad de invasión y transmisión viral (Dickey *et al.*, 2015). De manera similar, el gorgojo de la raíz (Coleoptera), *Diaprepes abbreviatus* Linnaeus 1758, es un complejo de especies (Ascunce *et al.*, 2008) con 13 BIN que muestran diferentes distribuciones geográficas. Esfuerzos por regular tales complejos de especies como una sola entidad no son apropiados porque puede complicar el cumplimiento regulatorio y comprometer los esfuerzos de control y gestión al plantear inquietudes cuando las especies no invasoras o que no son vectores se tratan como plagas. Aunque muchas especies de plagas reglamentadas con registros de códigos de barras están asignadas a un solo BIN, más de un tercio en BOLD muestra una división de BIN (Tabla 1). Por ejemplo, entre los lepidópteros, *Leucinodes orbonalis* Guenée 1854, una plaga cuarentenaria, está

representada por seis BIN, con diversos orígenes geográficos. Los movimientos transfronterizos de las especies representados por muchos BINs aumentan las complejidades que a menudo crearán ambigüedad en las comparaciones de especies que requieren revisiones de las regulaciones de cuarentena. A la inversa, hay casos en que diferentes especies carecen de divergencias en los códigos de barras ADN, lo que evita su discriminación. El caso más dramático involucra a 20 especies en el género de la mosca de la fruta *Bactrocera* que comparten el mismo BIN. Si bien algunos de estos taxones han sido sinonimizados recientemente (Schutze *et al.*, 2015) y otros casos pueden reflejar identificaciones erróneas, es probable que otros casos reflejen especies estrechamente relacionadas que se hibridan entre ellas. Tales casos requieren una investigación más detallada para determinar si otros marcadores genéticos permiten su discriminación o revelan que en realidad son sinónimos.

Dado que el código de barras del ADN identifica de manera confiable tanto a adultos como a estadios inmaduros (Shin *et al.*, 2013) y puede diferenciar plagas introducidas y nativas (Chown *et al.*, 2008), se ha utilizado para ayudar a manejar complejos de especies en sistemas agrícolas (Frewin *et al.* 2014). Tales aplicaciones son importantes puesto que la resistencia a los insecticidas puede variar entre especies estrechamente relacionadas, e incluso entre genotipos de la misma especie (van Toor *et al.*, 2008). Por ejemplo, dos moscas blancas crípticas en el complejo *B. tabaci*, Mediterráneo y Medio Oriente-Asia Menor 1 (MEAM1), difieren en su susceptibilidad a los insecticidas. Un estudio sobre la respuesta de poblaciones mixtas de estas especies mostró que las especies mediterráneas prevalecen bajo el manejo basado en insecticidas, pero son desplazadas por MEAM1 bajo control biológico (Frewin *et al.*, 2014).

El control biológico se considera en general como la estrategia óptima de manejo de plagas, pero la identificación incorrecta de la especie de plaga o su agente de control debido a la diversidad críptica puede conducir a resultados impredecibles (Van Lenteren *et al.*, 2003). Debido a su capacidad para determinar las asociaciones huésped-

parasitoide (Erlandson *et al.*, 2003), el código de barras de ADN se ha empleado para obtener una comprensión más profunda del control biológico utilizando enemigos naturales. Por ejemplo, Davis *et al.* (2011) diferenciaron los estadios inmaduros del escarabajo *Laricobius rubidus* LeConte 1861, un agente nativo de control biológico de *Adelges tsugae* Annand 1924 (Hemiptera), de *L. nigrinus*, especie introducida desde Japón, mientras que Derocles *et al.* (2015) examinaron las interacciones entre un minador de hojas y sus parasitoides para avanzar en el control biológico. Varios estudios han revelado una diversidad inesperada e interacciones vinculadas a la diversidad críptica. Los resultados del control biológico ganan rápidamente imprevisibilidad (Roderick *et al.*, 2012) cuando tanto el agente de control como el objetivo son complejos de especies crípticas, como, por ejemplo, en el caso de la avispa parasitoide *Trichogramma japonicum* Ashmead 1904 (3 BINs), que es empleada como agente de control para el lepidóptero, *Leucinodes orbonalis* Guenée, 1854 (6 BINs).

Las expansiones en el rango geográfico de las plagas de insectos a menudo requieren una respuesta rápida (Adrion *et al.*, 2014), y el código de barras del ADN puede proporcionar información más allá de las obtenidas a través del análisis morfológico. Por ejemplo, además de permitir la detección temprana de especies invasoras (Onah *et al.*, 2015), el código de barras del ADN puede revelar las regiones de origen (Bellis *et al.*, 2015) y los patrones de introducción (Blacket *et al.*, 2015). El equipo de Nagoshi (2011) lo usaron para monitorear las introducciones de las especies invasoras de los lepidópteros, *Spodoptera litura* Fabricius 1775 y *S. littoralis*, en Florida, mientras que Wei *et al.* (2010) y Tyagi *et al.* (2015) detectaron las primeras invasiones de *Echinothrips americanus* Morgan 1913 y *Thrips parvispinus* Karny 1922 en China e India, respectivamente. De manera similar, el código de barras del ADN diferenció a *Helicoverpa armigera* Hubner 1808 de *H. zea* (Boddie, 1850), la especie nativa, revelando la propagación de *H. armigera* después de su introducción en Brasil (Mastrangelo *et al.*, 2014). Más recientemente, el código de barras del ADN llevó al

reconocimiento del escarabajo *Agrilus ribesi* Schaefer 1946, cuya introducción en América del Norte se había pasado por alto durante un siglo (Jendek *et al.*, 2015). Esta técnica también se ha utilizado para detectar moscas de la fruta tefrítidas que son especies invasoras en Nigeria (Onah *et al.*, 2015), el hemíptero *Halyomorpha halys* Stal 1855 en Europa (Cesari *et al.*, 2015), y el insecto del algodón *Oxycarenus hyalinipennis* Costa 1843 en Florida (Nagoshi *et al.*, 2012). Basado en la efectividad de esta técnica en la identificación de especies, se inició el proyecto Código de barras de cuarentena de la vida ([www.qbol.org](http://www.qbol.org)) que ha trabajado para establecer el código de barras del ADN como la tecnología central para la identificación de organismos de cuarentena en apoyo de la salud de las plantas, y para lograr su aceptación por parte de los reguladores de plagas (Van de Vossenberg *et al.*, 2013).

Dado que el código de barras del ADN cumple con los estándares mínimos establecidos en los Estándares Internacionales para Medidas Fitosanitarias (Floyd *et al.*, 2010), se ha validado para su uso en ciencias reglamentarias y se posiciona para su adopción como la herramienta de diagnóstico preferida para las especies para cuarentena y regulación (Jones *et al.*, 2013). Sin embargo, la incorporación de esta tecnología en los flujos de trabajo de rutina de las agencias reguladoras aún está en desarrollo. Por lo tanto, existe una necesidad particular de desarrollar conjuntos de datos de referencia bien parametrizados sobre especies de plagas importantes para los países de origen. Debido a que casi el 75% de todos los BIN en BOLD, en general, se derivan de América del Norte y Europa, con una cobertura relativamente baja para las regiones que albergan muchas plagas mundiales potencialmente importantes, hay una necesidad de esfuerzos agresivos para una mayor parametrización de la biblioteca de referencia de códigos de barras. Sin embargo, incluso antes de que se complete esta tarea, el análisis del código de barras del ADN hace posible señalar la detección de cualquier especie recientemente encontrada, lo que proporciona un estímulo para su investigación adicional.

## 2.2. QUINUA: SUPER ALIMENTO PARA EL MUNDO

*Chenopodium quinoa* Willd (Caryophyllales: Amaranthaceae), "quinua", es un pseudocereal nativo de la región andina de Sudamérica que ha sido cultivado por más de 7 mil años en Perú, Bolivia y Ecuador en un amplio rango geográfico que va desde el nivel del mar hasta cerca de 4000 msnm (Small, 2013), en latitudes que comprenden principalmente los Andes desde los 20° N en Colombia hasta los 40° S en Chile, con una reciente introducción a Norte América, Europa, Asia y África (Caballero *et al.*, 2003; Bhargava *et al.*, 2006; Matiacevich *et al.*, 2006; Jancurova *et al.*, 2009; Bhargava y Srivastava, 2013; Saravia *et al.*, 2014; Tuisima y Fernandez, 2014; González *et al.*, 2015; Iqbal, 2015).

Por el aporte en calidad proteica y de ácidos grasos esenciales contenidos en sus granos, la quinua ha sido declarada como alimento fundamental y de gran importancia para mantener la seguridad alimenticia mundial (Jacobsen, 2003; Jacobsen *et al.*, 2003; Ogungbenle, 2003; Repo-Carrasco *et al.*, 2003; Konishi *et al.*, 2004; FAO, 2011; Bioversity International *et al.*, 2013; Maradini *et al.*, 2015). El Perú, desde el 2014 es líder de la producción de quinua en el mundo; solo en el 2016, la producción bordeó las 79.263 mil toneladas que representó el 53.3% del volumen de ese grano andino, seguido por Bolivia y Ecuador que contribuyeron con el 44% y 2.7%, respectivamente. En cuanto a producción nacional, en el 2016 fue Puno con 35.166 mil toneladas de producción (44.4% de la producción nacional), luego vinieron Ayacucho (21%), Apurímac (8.1%), Arequipa (7.8%), Cusco (5%) y Junín (4.8%). Del mismo modo, nuestro país sigue siendo el principal exportador mundial de quinua (47.3% del volumen total exportado el 2016), seguido por Bolivia (31.4%), Estados Unidos de América (5.6%) y los Países Bajos (3.6%) (Gestión, 2017).

### 2.2.1. PLAGAS DE LA QUINUA

Es difícil saber el número exacto de especies de insectos que atacan a la quinua en su estado vegetativo, pero se estima que cerca de 80 especies de insectos pertenecientes a seis ordenes (Coleoptera, Diptera, Hemiptera, Lepidoptera, Orthoptera, y Thysanoptera) se encuentran alimentándose de este cultivo (Yabar *et al.*, 2002; Rasmussen *et al.*, 2003; Saravia *et al.*, 2014; Gandarillas *et al.*, 2015; Cruces *et al.*, 2016). Los grupos más numerosos lo conforman Lepidoptera y Hemiptera con 28 y 18 taxones respectivamente a nivel de especie, mientras que los menos numerosos son Coleoptera, Orthoptera, Diptera, y Thysanoptera con nueve, cuatro, tres, y dos especies de insectos respectivamente (Cruces *et al.*, 2016).

Entre las principales especies de insectos plagas dentro de Lepidoptera, se destacan los géneros *Agrotis*, *Copitarsia*, *Eurysacca*, *Helicoverpa*, y *Spodoptera*. Dentro de estos, se tiene a las polillas de la quinua *Eurysacca melanocampta* Meyrick, 1917 y *Eurysacca quinoae* Polovny, 1997 como las plagas más fuertes en cultivos del altiplano y valles interandinos de Bolivia y Perú (Saravia *et al.*, 2014; Gandarillas *et al.*, 2015; Cruces *et al.*, 2016). Mientras que las polillas noctuidas *Helicoverpa zea* Boddie, 1850 y *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith, 1797 pueden encontrarse en cultivos de costa, valles interandinos y el altiplano (Cruces *et al.*, 2016).

Los principales hemípteros que ocurren en cultivo de la quinua pertenecen a los géneros *Liorhyssus*, *Nysius*, *Dagbertus*, *Macrosiphum*, y *Myzus*, que están presentes principalmente en la etapa de llenado de grano, etapa en la que cualquier método de control químico puede dejar residuos en el producto de cosecha (Cruces *et al.*, 2016).

En Cruces *et al.* (2016) se cita a especies de coleópteros pertenecientes a los géneros *Diabrotica*, *Epicauta*, *Epitrix*, y los considera como defoliadores de hojas en casi toda la etapa vegetativa de la planta.

En Diptera, se tienen a *Liriomyza huidobrensis* Blanchard, 1926 y *Prodiptosis longifila* Gagné, 1986 como los dípteros de mayor importancia fitosanitaria reportados para el cultivo de quinua, siendo los estadios larvarios los causantes de los daños a las plantas.



Las larvas de *L. huidobrensis* se alimentan de la savia de las hojas haciendo túneles debajo de la epidermis de dichas hojas lo que impide la normal fotosíntesis; mientras que *P. longifila*, es reportada para cultivos en la costa en donde sus estadios larvarios se alimentan raspando la epidermis de los brotes lo que causa deformaciones de las plantas impidiendo su normal crecimiento y desarrollo (Cruces *et al.*, 2016).

En cuanto a ortópteros, se menciona a *Gryllus assimilis* Fabricius, 1775 como la especie principal que puede encontrarse en las primeras etapas vegetativas del cultivo. Mientras que los tisanópteros del género *Frankliniella* suelen encontrarse alimentándose en el envés de las hojas de plántulas tiernas (Cruces *et al.*, 2016).

Muchas especies plagas de la quinua son consideradas polífagas, es decir que, pueden alimentarse de otras plantas y, por lo tanto, sus distribuciones geográficas pueden ser muy grandes. Tales distribuciones aunado al gran daño que pueden causar en los cultivos que atacan, han puesto a 9 de las 64 especies de insectos reportadas para el cultivo de quinua dentro de las cinco bases de datos de especies que requieren control.

#### 2.2.2. INTEGRACIÓN DE LOS INSECTOS DE LA QUINUA EN BOLD

En cuanto a los avances en integración de las especies de insectos fitófagos presentes en el cultivo de quinua en BOLD, una revisión en dicha base de datos reveló una cobertura únicamente para el 48.4% (Tabla 2) de los insectos reportados a nivel de especie en Cruces *et al.* 2016. Esta baja cobertura implicaría que solo 31 especies de las plagas registradas para la quinua, podrían ser determinadas con precisión mediante el análisis por código de barras de ADN; mientras que el resto de especies tendría que ser determinado mediante taxonomía tradicional que de por sí, es un procedimiento muy lento y cuyo enfoque requiere de herramientas complementarias y rápidas.

Tabla 2: Registro de especies de insectos plagas de quinua según BOLD, *Barcode of Life Data Systems* (Acceso: 22 de abril de 2017).

Orden	Especies Plagas	Especies con secuencias en BOLD	Especies con único BIN	Especies con más de un BIN
Coleoptera	9	1	1	0
Diptera	3	1	1	0
Hemiptera	18	7	6	1
Lepidoptera	28	20	14	6
Orthoptera	4	2	2	0
Thysanoptera	2	0	0	0
Total	64	31	24	7

BIN: Barcode Index Number

El uso de bibliotecas de referencia de códigos de barras de ADN podría facilitar y agilizar las identificaciones de los insectos plagas de importancia fitosanitaria, lo que llevaría a adecuadas implementaciones en las medidas de control de las poblaciones de insectos de interés regulatorio. Como tal, la relativa poca cobertura de las especies de insectos plagas de la quinua en BOLD hace evidente la necesidad de desarrollar esfuerzos en proyectos que ayuden y contribuyan a reducir el vacío que existe para las especies de insectos no presentes en BOLD. Como tal, el presente estudio pretende mediante colecciones directas en campo, revisión de material de colección y uso de la información ya existente en BOLD, elaborar una biblioteca de códigos de barras de ADN para las especies de insectos fitófagos de importancia fitosanitaria presentes en el cultivo de quinua.

### III. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

#### 3.1. HIPÓTESIS

La técnica del código de barras de ADN es una herramienta efectiva y confiable para identificar las especies de insectos fitófagos de quinua.

### 3.2. OBJETIVOS

#### 3.2.1. OBJETIVO GENERAL

- Determinar la aplicabilidad de la técnica del código de barras de ADN en la identificación de especies de insectos fitófagos del cultivo de *Chenopodium quinoa* en Perú.

#### 3.2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Elaborar una biblioteca de código de barras de insectos fitófagos asociados al cultivo de *C. quinoa*.
- Evaluar el uso de la biblioteca de código de barras de ADN de los insectos fitófagos de *C. quinoa* en la identificación rápida de especímenes.

## IV. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1. MÉTODOS DE CAMPO

#### 4.1.1. ÁREA DE ESTUDIO

Se eligieron cultivos de quinua ubicados en cinco departamentos (Fig. 1) siguiendo dos criterios:

- Zona de mayor producción – los departamentos con mayor producción en el país son Puno, Arequipa, Ayacucho, y Junín.
- Facilidad de acceso a los mismos – los lugares en donde se cultiva la quinua generalmente están alejados de las ciudades y la movilidad es restringida.

Las localidades escogidas se describen a continuación:

Cajamarca: Se establecieron tres lugares de muestreo dentro de la provincia de Cajamarca, dos de ellos se ubicaron en el centro poblado de Acshupata (Fig. 1), distrito de Magdalena, 7° 13' 1.03" S, 78° 34' 32.68" O y 7° 12' 32.64" S, 78° 33' 56.82" O; y a una altitud de 3437 m.s.n.m. y 3489 m.s.n.m., respectivamente; mientras que el tercer lugar de muestreo estuvo ubicado en el centro poblado de Llullapuquio (Fig. 1, cuadrado), distrito de Chetilla, 7° 7' 14.51" S, 78° 40' 18.78" O, a una altitud de 3055

m.s.n.m. El acceso a estos lugares se realizó con movilidad proporcionada por la Dirección Regional de Agricultura de Cajamarca.

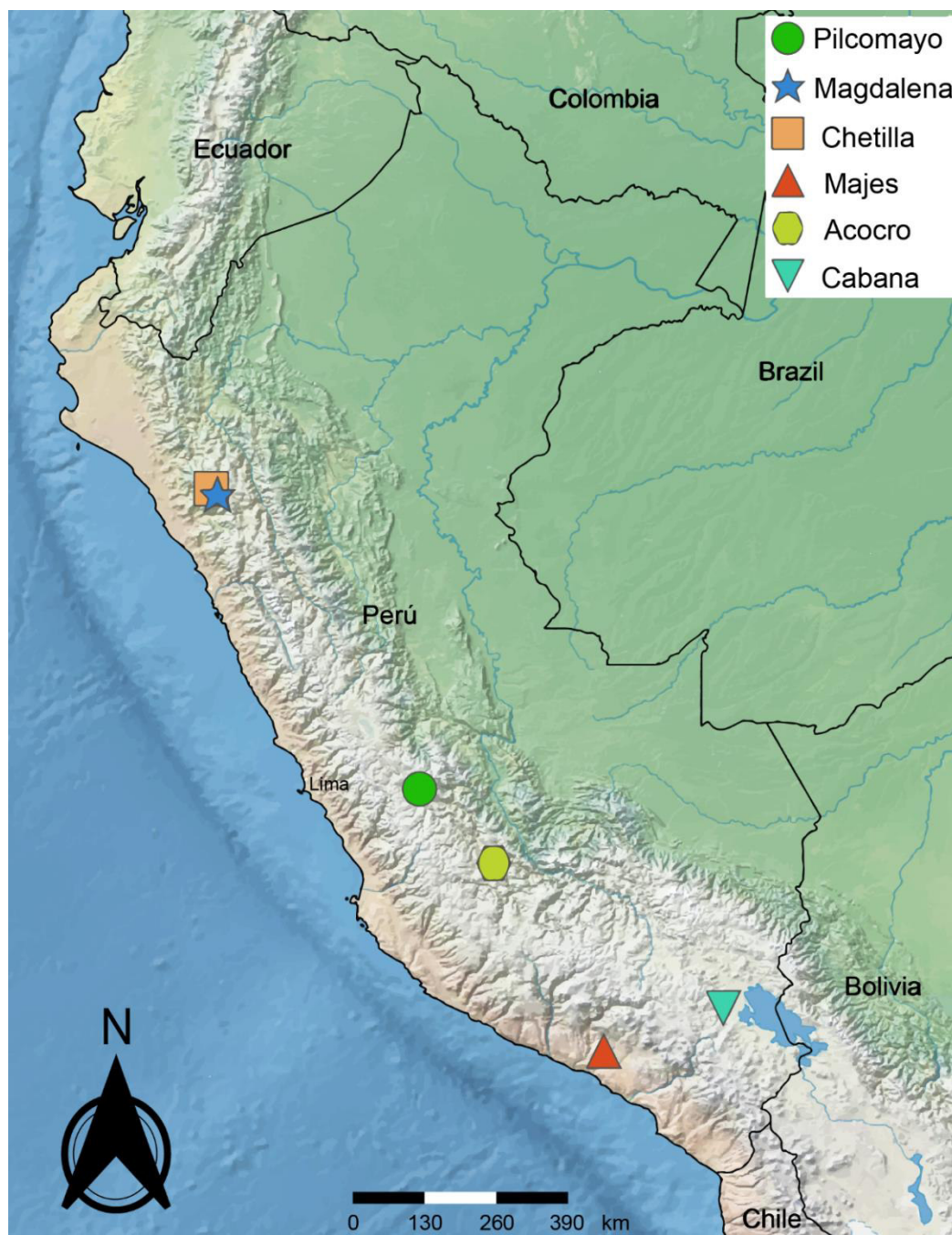


Figura 1: Mapa de las localidades de muestreo de insectos asociados a cultivos de quinua. Las formas geométricas, según la leyenda, indican los distritos en donde se ubican los lugares de colecta: Pilcomayo en Junín, Magdalena y Chetilla en Cajamarca, Majes en Arequipa, Acocro en Ayacucho, Cabana en Puno.

Junín: Aquí se consideró solo un lugar de muestreo (Fig. 1), el cual se ubicó en el centro poblado de Patarcocha, distrito de Pilcomayo, provincia de Huancayo, 12° 2' 31.16" S, 75° 15' 35.67" O, a una altitud de 3214 m.s.n.m. El acceso a dicho lugar se realizó con una movilidad proporcionada por la Comunidad Campesina del distrito de Sicaya.

Arequipa: Se eligió sólo un lugar de muestreo (Fig. 1), el cual se ubicó en la denominada "zona especializada" en el distrito de Majes, provincia de Caylloma, 16° 20' 15.22" S, 72° 14' 31.1" O, a una altitud de 1387 m.s.n.m. El acceso a dicho lugar se realizó con una movilidad proporcionada por la empresa FARMEX - sede Majes.

Ayacucho: Se eligió un lugar de muestreo (Fig. 1), el cual se ubicó en el centro poblado de Pampamarca, distrito de Acocro, provincia de Huamanga, 13° 15' 31.01" S, 74° 2' 32.72" O, a una altitud de 3463 m.s.n.m. El acceso a dicho lugar se realizó con una movilidad proporcionada por la empresa SOLID FOOD PERÚ.

Puno: Se dispuso sólo de un lugar de muestreo (Fig. 1), el cual se ubicó en el ámbito del distrito de Cabana, provincia de San Román, 15° 38' 0.44" S, 70° 16' 58.36" O, a una altitud de 3896 m.s.n.m. El acceso a dicho lugar se realizó con una movilidad de la Cooperativa COPAIN CABANA.

#### 4.1.2. MUESTREO BIOLÓGICO

Por localidad, se tomó un área de cultivo de aproximadamente cinco hectáreas y el muestreo se realizó por el método de cinco puntos (Jin *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2017). Por este método, se dispuso de parcelas de 50 x 50 m, distanciadas entre sí y del borde del cultivo por 50 m (Fig. 2A). Cada parcela fue dividida en tres sub-parcelas en donde se instalaron seis trampas de caída (pitfalls), seis trampas amarillas, y una trampa malaise que fueron distribuidas de modo uniforme (Fig. 2B). Los muestreos se realizaron entre enero a octubre de 2017, con una frecuencia de colecta de cada 48 horas por el periodo de 8 días en cada lugar.

También se realizó colecta diurna de modo manual directamente de la planta de quinua abarcando todas las partes vegetativas, desde el tallo, hojas, panoja, inflorescencia,

según el estado fenológico de la planta encontrado. Este modo de colecta, se realizó con el uso de una red entomológica o un pincel fino con un esfuerzo de muestreo de media hora por parcela, con una frecuencia de 48 horas, y alternado en los días de revisión y recolecta de especímenes de las trampas. Para cultivos pequeños, solo se instalaron una o dos parcelas.

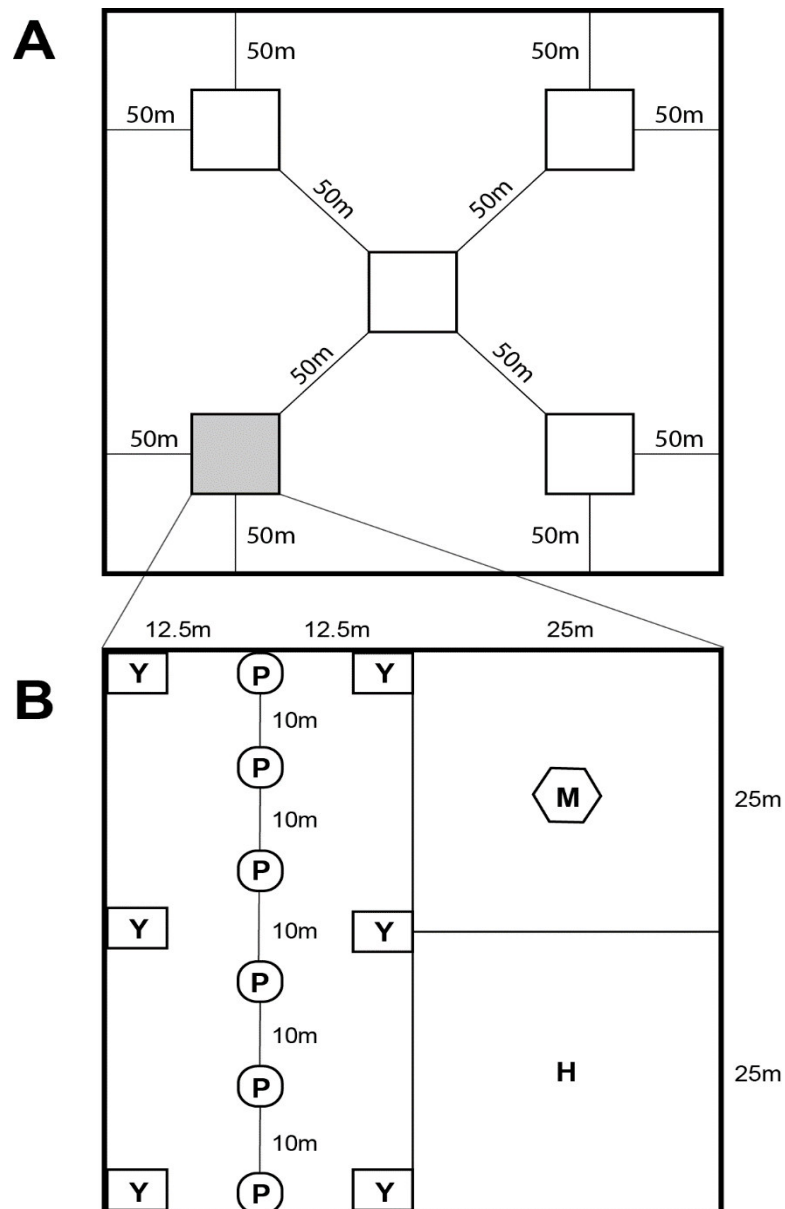


Figura 2: Diseño de muestreo de insectos en un cultivo de quinua. A. Esquema de muestreo por el método de los cinco puntos. B. Disposición de las trampas en la parcela. Donde P, trampa pitfall; Y, trampa amarilla; M, trampa malaise; y H, muestreo manual.

Los insectos colectados fueron preservados en etanol al 96% y trasladados al Laboratorio de Biología Molecular de la unidad del Centro de Diagnóstico de Sanidad Vegetal del Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA) para su posterior análisis.

#### 4.2. MÉTODOS DE LABORATORIO

##### 4.2.1. EXAMEN MORFOLÓGICO

###### 4.2.1.1. MONTAJE DE ESPECÍMENES

Montaje de Lepidoptera: Los especímenes de pequeño tamaño (micro lepidópteros con expansión alar igual o menor que 20mm), fueron montados con minucias (montaje doble) siguiendo a Landry y Landry (1994); los de tamaño regular (expansión alar mayor a 20mm), siguieron un montaje simple con las agujas entomológicas nº 2 o 3 (Krogmann y Holstein, 2010).

Montaje de Thysanoptera: Se prepararon láminas permanentes con bálsamo de Canadá (Silveira y Haro, 2016).

Montaje de Coleoptera, Diptera y Hemiptera: Para realizar el montaje, primero se retiraron los especímenes del líquido preservante (alcohol), en una placa Petri se procedió a estirar las alas en dípteros e himenópteros; una vez secos, fueron montados con alfileres entomológicos número 2; los insectos fueron atravesados por el mesotórax, los especímenes pequeños fueron montados en triángulos de papel duro que va insertado en su base a un alfiler. El insecto fue colocado lateralmente con los apéndices en la dirección del alfiler y con una pequeña cantidad de pegamento se sujetó por el lado izquierdo contactando solamente la mesopleura (Lattke, 2000; Krogmann y Holstein, 2010).

###### 4.2.1.2. DETERMINACIÓN TAXONÓMICA DE ESPECÍMENES

Todos los especímenes colectados fueron examinados minuciosamente utilizando un estereoscopio OLYMPUS SZX12, y la determinación a nivel de especie y/o morfoespecie se llevó a cabo siguiendo claves taxonómicas en base a caracteres morfológicos, entre ellos: 1) para lepidópteros: Rasmusen *et al.*, 2001; Pogue, 2002;

Pogue, 2004; Pogue y Simmons, 2008; Lafontaine *et al.*, 2009; Pogue, 2013; Pogue, 2014; San Blas, 2014; San Blas, 2015); 2) para coleópteros: Pinto y Bologna, 1999; Cabrera, 2001a; Cabrera, 2001b; Constantin, 2011; Chaboo y Clark, 2015; Pinto y Bologna, 2016; 3) para hemípteros: Hodkinson y White, 1979; Burckhardt, 1988; Menard, 2015; Panizzi y Grazia, 2015; Pall *et al.*, 2016; 4) para dípteros: Shiao, 2004; 5) para tisanópteros: Cavalleri y Mound, 2012, Mirab-balou *et al.*, 2013.

Los especímenes fueron depositados en la colección de Entomología de la Unidad del Centro de Diagnóstico de Sanidad Vegetal del Servicio de Sanidad Agraria (SENASA), y en la colección del Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (MUSM) con constancia de depósito MUSM-ENT-034-2017.

#### 4.2.2. PROCESAMIENTO MOLECULAR DE ESPECÍMENES

Con el objetivo de abarcar a la mayoría de los insectos fitófagos de la quinua, se tomaron muestras de tejido tanto de los insectos colectados en campo como de especímenes ya depositados en la colección de entomología del Laboratorio de Entomología del Centro de Diagnóstico de Sanidad Vegetal del SENASA siguiendo la lista de especies en Cruces *et al.* (2016). Dicha toma de tejido se realizó sobre una superficie limpia y con el uso de pinzas estériles se extrajo la tibia del segundo par de patas y se usó un segmento de aproximadamente dos milímetros (insectos de tamaño igual o mayor a 10mm) o se usó el cuerpo entero del insecto (para insectos con tamaño menor a 2mm); la muestra fue colocada en un microtubo estéril con alcohol absoluto y mantenido a – 20 grados Celsius.

Extracción de ADN total: Se siguió el protocolo del *Center for Biodiversity Genomics* (Guelph, Canada), el cual se basa en un método de lisis enzimática con Proteinasa K (Ivanova *et al.*, 2006; Dewaard *et al.*, 2008; Wilson, 2012).

En una primera fase, se preparó un mix de lisis, el cual consistió en la mezcla de 45.5 µl de *Insect Lysis Buffer* (ILB) y 5 µl de Proteinasa K 20 mg/ml por muestra, luego se



agregó 50 µl de este mix al tubo que ya contenía la muestra del insecto y se dejó en incubación a 56°C por toda una noche para permitir la digestión.

En una segunda fase, la muestra ya digerida, se centrifugó a 1500 g por 15 segundos, luego se incorporó 100 µl de *Binding Mix* a cada muestra y se homogenizó vigorosamente por 15 segundos, luego se centrifugó a 1500 g por 20 segundos, luego se transfirió 150 µl del lisado a un tubo con filtro. Se centrifugó a 6000 g por 5 minutos (esto permitió que el ADN se una a la membrana), luego se procedió al primer lavado en donde se le agregó 180 µl de *Protein Wash Buffer* (PWB) a cada tubo y centrifugó a 6000 g por 2 minutos, luego se realizó un segundo lavado en donde se agregó 750 µl de *Wash Buffer* (WB) a cada tubo y centrifugó a 6000 g por 5 minutos, se eliminó el contenido líquido, luego se centrifugó a 13000 g por 2 minutos, se incubó a 56°C por 30 minutos (para evaporar el etanol residual), después de esto, las columnas fueron colocadas en tubos limpios, se dispensó 30 µl de ddH<sub>2</sub>O precalentada a 56°C directamente sobre la membrana de cada tubo e incubó por 1 minuto a temperatura ambiente. Se centrifugó a 10000 g por 5 minutos para colectar el ADN eluido. Se utilizó 1 µl de ADN extraído para ser cuantificado en el espectrofotómetro *Thermo Scientific nanodrop* 2000. El ADN fue preservado temporalmente a -20°C hasta el proceso de PCR.

Amplificación del gen COI por PCR (*Polimerase Chain Reaction*): Esta etapa se realizó con el uso del *kit* BIG DYE TERMINATOR (BDT) y el par de *primers* universales LCO1419 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3') y HCO2198 (5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3') que secuencian al COI (Citocromo Oxidasa subunidad I) en invertebrados (Folmer *et al.*, 1994).

Se preparó el mix de PCR que consistió de 0.25 µl de BDT 2.5 X, 1.875 µl de BDT *buffer* 5X, 4 µl de *Primer* 1pmol/µl, 1 µl de ADN (3-10 ng/µl) y 10 µl de NFW en un volumen total de 20 µl. Se procedió con la PCR en el termociclador SimpliAmp o ProFlex que siguió las especificaciones de 1 ciclo de un minuto para denaturación inicial a 96°C, 30

ciclos de 15 segundos para denaturación a 94°C, 15 segundos para anillamiento a 50°C y 4 minutos para extensión a 60°C (con un cambio de rampa de 1°C/s) (Tabla 1). Finalmente, se conservó los 20 µl de muestra a 4°C.

Tabla 3: Protocolo de PCR en termociclador.

PROCESO	TEMPERATURA	TIEMPO	# DE CICLOS
Denaturación inicial	96°C	1 Minuto	1 Ciclo
Denaturación	94°C	15 Segundos	30 Ciclos
Anillamiento	50°C	10 Segundos	
Extensión	60°C	4 Minutos	
Conservación de muestra	4°C	∞	

Los resultados del procedimiento de PCR fueron observados mediante electroforesis en gel de agarosa al 1.5 % diluida en *buffer* de corrida TBE 1X. Se tomó 2 µl de cada amplicón (producto de la amplificación de ADN en la PCR) y se mezcló con 1 µl de *loading buffer* (azul de bromofenol, xileno-cianol y *Orange G*). Esta mezcla fue depositada en cada pocillo del gel. Adicionalmente se colocó en uno de los pocillos 2 µl de marcador de peso molecular GeneRuler 100 pb ADN *ladder* con 1 µl de *loading buffer*. Los geles fueron colocados en la cámara de electroforesis y se dejó migrar a 90 V durante 60 minutos. Luego de esto, los geles fueron teñidos con bromuro de etidio y las bandas resultado de la migración fueron visualizadas y fotografiadas utilizando un transiluminador Gel Doc™ XR de BIO-RAD.

Purificación de las muestras PCR con el kit BIG DYE TERMINATOR: se le añadió 240 µl de *Sequencing Binding Buffer* a la muestra amplificada por PCR. Esta mezcla fué transferida a una columna *Zymo-spin™ IB Column* con su tubo colector y se centrifugó por 30 segundos a 13000 rpm, luego de lo cual, se le agregó 300 µl de *Sequencing Wash Buffer* a la columna y se centrifugó por 30 segundos a 14000 rpm, se eliminaron los tubos colectores y se colocó la columna sobre un tubo nuevo, a ésta, se le agregó

20 µl de NFW y se centrifugó por 30 segundos a 13000 rpm. El ADN purificado se almacenó a una temperatura de -70°C hasta el proceso de secuenciamiento.

Proceso para secuenciar en el Analizador Genético *Applied Biosystems 3130/3131xl*: se agregó 15 µl de Hi-di formamida a cada pozo de la placa de secuenciamiento y se le adicionó 2 µl de ADN purificado para secuenciamiento, luego se procedió a denaturar en el termociclador por 3 minutos a 95°C, luego se colocó la placa a -20°C por 5 minutos y se centrifugó por spin. Finalmente se llevó al secuenciador.

La obtención de secuencias finales siguió tres caminos: El primero, donde la parte de extracción hasta obtención de los productos de PCR fueron realizados en el Laboratorio de Biología Molecular de la Unidad del Centro de Diagnóstico de Sanidad Vegetal del Servicio Nacional de Sanidad Agraria, y la fase de secuenciamiento fué realizada en el Laboratorio de Biología Molecular y Genómica del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA); el segundo, donde los productos de PCR fueron enviados a secuenciar a *Bio Basic Inc.* (empresa canadiense); y el tercero, donde todos los procesos desde la extracción de ADN hasta la obtención de las secuencias consenso fueron realizados en el *Center for Biodiversity Genomics* en Guelph, Canadá.

#### 4.3. ANÁLISIS BIOINFORMÁTICOS

##### 4.3.1. EDICIÓN DE SECUENCIAS

Los electroferogramas generados en el secuenciador fueron procesados con el programa bioinformático *CodonCode Aligner* versión 7.1.1 (*Codoncode Corporation*, 2017) en donde las secuencias de ADN fueron editadas, alineadas, y ensambladas, y traducidas a secuencias de aminoácidos para verificar la ausencia de codones de terminación (*Stop codons*). Para evaluar la presencia de inserciones y/o deleciones en los alineamientos, estas secuencias fueron examinadas visualmente usando el programa MEGA versión 7.0 (Kumar *et al.*, 2016). Al final se obtuvo la secuencia consenso, la cual fue depositada en la plataforma del *Barcode of Life Data System*

(BOLD: Ratnasingham y Hebert, 2007), plataforma en-línea que alberga la totalidad de secuencias de Código de barras de ADN.

#### 4.3.2. ELECCIÓN DE CONJUNTO DE SECUENCIAS

Con el objetivo de construir una biblioteca de código de barras de ADN lo más completa posible, las secuencias propias fueron suplementadas con secuencias descargadas de BOLD. En total se usaron 4 168 secuencias para 66 especies y morfoespecies de insectos fitófagos asociados al cultivo de quinua. Se usaron secuencias con al menos 500 pares de bases, para facilitar los alineamientos (Lavinia *et al.*, 2017).

#### 4.3.3. DIAGNÓSTICO DE TAXA MEDIANTE CÓDIGO DE BARRAS DE ADN

Las secuencias para cada especie y para cada morfoespecie fueron alineadas usando MAFFT (*Multiple Alignment using Fast Fourier Transform*) versión 7.313 (Katoh y Standley, 2013) con los parámetros predeterminados. Los alineamientos fueron importados a R versión 3.4.3 (*R Core Team*, 2018) usando el paquete APE (*Analysis of Phylogenetics and Evolution*) versión 5.2 (Paradis *et al.*, 2004). Se generaron matrices de distancia con la función *dist.dna* usando el modelo de sustitución de *Kimura two-parameter* (K2P: Kimura, 1980). Las distancias intraespecíficas e interespecíficas fueron calculadas usando el paquete SPIDER (*SPecies IDentity and Evolution in R*) versión 1.3 (Brown *et al.*, 2012).

Con el objetivo de evaluar el grado de confianza en la designación de especies por la taxonomía, se compararon con las asignaciones de BIN (*Barcode Index Number*) determinadas por BOLD (Ratnasingham y Hebert, 2013). Las asignaciones de BIN son determinadas según el algoritmo RESL (*Refined Single Linkage*) propia de BOLD, donde cada espécimen con una secuencia de más de 500 pares de bases gana automáticamente un BIN; ahora bien, las asignaciones de BIN se actualizan dinámicamente a medida que se agregan nuevos registros a BOLD por lo que éstos se pueden combinar cuando se agregan especímenes genéticamente intermedios o se dividen cuando los nuevos registros revelan una clara estructura de divergencia de

secuencia, es decir que funciona de manera más óptima mientras más especímenes son agregados a BOLD (Ratnasingham y Hebert, 2013).

Para que la técnica del código de barras de ADN funcione correctamente, es requisito que exista una brecha genética (*barcode gap*) en los taxones que se pretenda analizar (Meyer y Paulay, 2005). Para evaluar la existencia de tal brecha, se utilizó el enfoque de Meier *et al.* (2008), donde se compararon las distancias intraespecíficas más grandes con las distancias interespecíficas más pequeñas.

Con el objetivo de observar de forma gráfica la relación de algunos especímenes de acuerdo a su secuencia genética, se construyeron arboles de genes. Para tal, se siguieron dos caminos: el primero, mediante *Maximum likelihood* usando RAxML versión 8 (Stamakis, 2014) según el modelo GTR y la robustez de los nodos se evaluó con 1,000 repeticiones de *Bootstrap*; y el segundo, mediante inferencia bayesiana usando BEAST2 versión 2.5 (Bouckaert *et al.*, 2014), con un modelo de reloj estricto, un modelo de árbol de Yule , y un modelo de sustitución HKY escogido usando jModeltest2 versión 2.1.10 (Darriba *et al.*, 2012), se usaron 50 millones de generaciones MCMC (*Markov chain Monte Carlo*), los arboles fueron guardados cada cinco mil generaciones, la convergencia de MCMC y el ESS (*Effective Sample Size*) fue revisado en *Tracer* versión 1.7 (Rambaut *et al.*, 2018). Al final, un árbol consenso fue generado en *TreeAnnotator* versión 1.6.1 (paquete de BEAST2) con el 10% de árboles como descarte. El soporte para nodos se determinó utilizando probabilidades posteriores (PP; calculadas por BEAST2)

#### 4.3.4. EVALUACIÓN DE IDENTIFICACIÓN DE INSECTOS POR CÓDIGO DE BARRAS DE ADN

Para evaluar la utilidad del código de barras del ADN en la identificación de especímenes mediante el uso de biblioteca de código de barras, se sometió a una prueba de identificación mediante simulación en R. La prueba de identificación funciona del siguiente modo: Cada secuencia se considera como desconocida, mientras que las secuencias restantes en el *dataset* se consideran como la librería de códigos de barras

de ADN utilizada para la identificación, si la identificación de la consulta es la misma que la identificación pre-considerada (es decir, las etiquetas de secuencia), la prueba de identificación se califica como "correcta", y la proporción general de identificación correcta corresponde al poder discriminatorio de la región analizada, es decir COI. Esta prueba se realizó mediante tres enfoques: El *Best match* (BM), el *Best close match* (BCM) (Meier *et al.*, 2006), y el criterio de BOLD (CB) usando respectivamente las funciones *nearNeighbour*, *bestCloseMatch*, y *threshID* implementadas en SPIDER (Brown *et al.*, 2012).

La función *nearNeighbour* encuentra al individuo más cercano y devuelve el puntaje "verdadero" (equivalente a "correcto") si sus nombres son iguales, pero si los nombres son diferentes, el resultado se califica como "falso" (equivalente a "incorrecto").

La función *bestCloseMatch* realiza el análisis de "mejor coincidencia" de Meier *et al.* (2006), buscando el individuo más cercano en el conjunto de datos. Si el individuo más cercano está dentro de un umbral determinado (valor predeterminado del 0.01 ó 1%), el resultado se califica como "correcto". Si está más allá del umbral dado, el resultado es "no ID" (sin identificación). Si más de una especie está vinculada para una coincidencia más cercana, el resultado de la prueba es una identificación "ambigua". Cuando todas las coincidencias dentro del umbral son especies diferentes a la consulta, el resultado se califica como "incorrecto".

La función *threshID* lleva a cabo un análisis basado en el umbral predeterminado de 0.01 (1%) según la herramienta *Identify Specimen* proporcionada por el sistema de BOLD (<http://www.boldsystems.org/views/idrequest.php>). Es más inclusivo que *bestCloseMatch*, ya que considera todas las secuencias dentro del umbral del 1%. También hay cuatro resultados posibles para las pruebas, es decir, "correcto", "incorrecto", "ambiguo" y "no id" similares a los resultados de la función *bestCloseMatch*.

Se utilizaron tres diferentes umbrales en los criterios de BCM y CB. El primer umbral se estableció en 0.01 (1%), que es el estándar utilizado por el motor de identificación de

BOLD. El segundo umbral fue generado por la función *threshOpt* en SPIDER, que minimiza el error de identificación acumulativa que incorpora un error falso positivo (no hay coincidencias específicas dentro del umbral, sino que hay muestras conspecíficas disponibles) y un error falso negativo (más de una especie registrada dentro del umbral). El tercer umbral se obtuvo a partir del mínimo de una gráfica de densidad de distancias genéticas, que representa la transición entre distancias intra e interespecíficas, que se calculó mediante la función *localMinima* en SPIDER.

## V. RESULTADOS

Los muestreos resultaron en la colecta de 45 especies y morfoespecies de insectos asociados a quinua (Anexo 1, Figs. 1 - 4). Los órdenes más diversos resultaron ser Lepidoptera y Hemiptera con 18 y 17 especies respectivamente; mientras que Coleoptera y Diptera resultaron con ocho y dos especies respectivamente. La revisión de la colección de Entomología resultó en siete especies para Lepidoptera, una especie tanto para Coleoptera como para Orthoptera.

Entre los principales insectos considerados de importancia fitosanitaria, se encuentran 20 especies distribuidas en cuatro órdenes:

- 1) Coleoptera: En coleoptera se encontraron a *Diabrotica decempunctata* Latreille 1833 y *Diabrotica speciosa* Germar, 1824.
- 2) Diptera: Únicamente se encontró a la mosca minadora de hojas *Liriomyza huidobrensis* Blanchard, 1926.
- 3) Hemiptera: Entre los hemípteros, se encontraron a los áfidos de la Familia Aphididae *Hyperomyzus lactucae* Linnaeus, 1758, *Lipaphis pseudobrassicae* Davis 1914, *Myzus persicae* Sulzer, 1776, *Therioaphis trifolii* Monell 1882; y a *Liorhyssus hyalinus* Fabricius, 1794 dentro de la familia Rhopalidae.
- 4) Lepidoptera: Se encontró a los lepidópteros *Eurysacca menalocampta* Meyrick, 1917 y *Eurysacca quinoae* Povolny, 1997 en la familia Gelechiidae; y a las especies *Copitarsia corruda* Pogue y Simmons, 2008, *Copitarsia decolora*

Guenée, 1852, *Chloridea virescens* Fabricius, 1777, *Chrysodeixis includens* Walker, 1857, *Helicoverpa armigera* Hubner, 1808, *Helicoverpa atacamae* Hardwick, 1965, *Helicoverpa zea* Boddie, 1850, *Mythimna unipuncta* Haworth, 1809, *Spodoptera eridania* Stoll, 1781, *Spodoptera frugiperda* Smith, 1797, *Spodoptera ochrea* Hampson, 1909; dentro de la familia Noctuidae.

Se encontraron 22 nuevos registros de especies y morfoespecies que están presentes en el cultivo de quinua que se encuentran distribuidos en tres órdenes según se detalla a continuación.

- 1) Coleoptera: *Astylus baeri* Pic 1910, *Astylus subannulatus* Pic 1909, *Diabrotica decempunctata* Latreille 1833, *Centralaphthona* sp., *Chaetocnema* sp., *Phyllotreta* sp.
- 2) Hemiptera: *Atractotomus* sp., *Hyperomyzus lactucae* Linnaeus 1758, *Icaia* sp., *Lipaphis pseudobrassicae* Davis 1914, *Nysius raphanus* Howard 1872, *Phytocoris* sp., *Proba californica* Knight 1968, *Sapanagonicus* sp.1, *Sapanagonicus* sp.2, *Therioaphis trifolii* Monell 1882.
- 3) Lepidoptera: *Autoplusia egea* Guenée 1852, *Copitarsia naenoides* Butler 1882, *Helicoverpa armigera* Hubner 1827, *Heterusia sinuosa* Felder 1875, *Megalographa biloba* Stephens 1830, *Megalographa monoxyla* Dyar 1913.

A partir de 4168 secuencias para 66 especies y morfoespecies (grupo de especímenes determinados a nivel taxonómico de género) de insectos fitófagos presentes en el cultivo de quinua se elaboró la biblioteca del código de barras de ADN de los insectos fitófagos del cultivo de quinua (Tabla 4). Esta biblioteca comprende a 47 taxones a nivel de especie y 19 taxones a nivel de género. En este estudio se generaron secuencias para 313 especímenes que comprenden 54 especies y morfoespecies, de estos, 27 corresponden a nuevos registros de taxa para la base de datos del BOLD (*Barcode of Life Data*) Systems (Tabla 4); mientras que 3855 secuencias corresponden a secuencias complementarias descargadas de la base de datos del BOLD Systems.



Tabla 4: Número de secuencias, número de *Barcode Index Numbers* (BINs), y distancias genéticas (% K2P) para insectos fitófagos de la quinua basado en datos en BOLD, *Barcode of Life Data Systems*. DMIN, distancia interespecífica mínima; DMAX, distancia intraespecífica máxima; K2P, distancia calculada con el modelo de Kimura; a, registro nuevo en BOLD.

TAXON	SECUENCIAS	BIN	DMAX	DMIN
<i>Achyra bifidalis</i> (Fabricius, 1794)	3	1	0	11.70
<i>Agrotis experta</i> (Walker, 1869) <sup>a</sup>	7	1	0.15	5.41
<i>Agrotis ipsilon</i> (Hufnagel, 1776)	243	1	1.74	4.25
<i>Agrotis</i> sp. <sup>a</sup>	2	1	0	4.25
<i>Aphis craccivora</i> (Koch, 1854)	222	1	3.04	6.52
<i>Aphis gossypii</i> (Glover, 1877)	410	1	2.78	6.13
<i>Astylus baeri</i> (Pic, 1910) <sup>a</sup>	2	1	0	13.81
<i>Astylus subannulatus</i> (Pic, 1909) <sup>a</sup>	9	3	13.49	13.81
<i>Atractotomus</i> sp. <sup>a</sup>	2	1	0	17.73
<i>Autoplusia egea</i> (Guenée, 1852)	6	1	0.30	5.09
<i>Bergallia</i> sp.1 <sup>a</sup>	2	1	0	16.99
<i>Bergallia</i> sp.2 <sup>a</sup>	2	1	0	16.99
<i>Centralaphthona</i> sp. <sup>a</sup>	2	1	1.23	24.19
<i>Chaetocnema</i> sp. <sup>a</sup>	2	1	0.15	19.59
<i>Chloridea virescens</i> (Fabricius, 1777)	43	1	0.93	6.58
<i>Chrysodeixis includens</i> (Walker, 1857)	118	1	0.64	7.18
<i>Copitarsia corruda</i> (Pogue & Simmons 2008)	18	1	0.76	1.50
<i>Copitarsia decolora</i> (Guenée, 1852)	73	1	2.68	1.35
<i>Copitarsia naenoides</i> (Butler, 1882) <sup>a</sup>	13	1	0.91	1.35
<i>Dargida grammivora</i> (Walker, 1856)	7	1	0.30	7.08
<i>Diabrotica decempunctata</i> (Latreille, 1833) <sup>a</sup>	27	1	1.54	14.74
<i>Diabrotica speciosa</i> (Germar, 1824) <sup>a</sup>	9	1	2.36	14.74
<i>Dichroplus maculipennis</i> (Blanchard, 1851)	2	1	0.17	23.03
<i>Epicauta</i> sp. <sup>a</sup>	6	2	4.01	22.96
<i>Epitrix</i> sp. <sup>a</sup>	5	1	1.07	19.33
<i>Eurysacca melanocampta</i> (Meyrick, 1917)	8	1	0.31	4.27
<i>Eurysacca quinoae</i> (Povolny, 1997)	7	1	0.30	1.96
<i>Eurysacca</i> sp. <sup>a</sup>	2	1	0.30	1.96
<i>Gryllus assimilis</i> (Fabricius, 1775)	8	1	0.31	19.10
<i>Helicoverpa armigera</i> (Hubner, 1808)	507	1	2.03	2.02
<i>Helicoverpa atacamae</i> (Hardwick, 1965)	6	1	0.92	3.60
<i>Helicoverpa gelotopoeon</i> (Dyar, 1921)	3	1	0.54	3.14
<i>Helicoverpa zea</i> (Boddie, 1850)	310	1	1.23	2.02
<i>Herpetogramma bipunctalis</i> (Fabricius, 1794)	3	1	0.88	9.72
<i>Heterusia sinuosa</i> (Felder, 1875) <sup>a</sup>	2	1	0	11.69
<i>Hyperomyzus lactucae</i> (Linnaeus, 1758)	115	1	0.46	4.61
<i>Icaia</i> sp. <sup>a</sup>	2	1	0.15	22.86
<i>Liorhyssus hyalinus</i> (Fabricius, 1794)	22	1	2.59	19.27
<i>Lipaphis pseudobrassicae</i> (Davis, 1914)	41	2	3.55	6.37
<i>Liriomyza huidobrensis</i> (Blanchard, 1926)	12	1	0.47	12.84

Tabla 4 (continuación): Número de secuencias, número de *Barcode Index Numbers* (BINs), y distancias genéticas (% K2P) para insectos fitófagos de la quinua basado en datos en BOLD, *Barcode of Life Data Systems*. DMIN, distancia interespecífica mínima; DMAX, distancia intraespecífica máxima; K2P, distancia calculada con el modelo de Kimura; a, registro nuevo en BOLD.

TAXON	SECUENCIAS	BIN	DMAX	DMIN
<i>Liriomyza</i> sp. <sup>a</sup>	3	1	0.30	12.84
<i>Macrosiphum euphorbiae</i> (Thomas, 1878)	189	1	1.58	4.61
<i>Megalographa biloba</i> (Stephens, 1830)	19	1	0.92	5.10
<i>Megalographa monoxyla</i> (Dyar, 1913)	3	1	0	5.10
<i>Mythimna unipuncta</i> (Haworth, 1809)	374	2	4.72	6.84
<i>Myzus persicae</i> (Sulzer, 1776)	131	1	2.04	6.48
<i>Nezara viridula</i> (Linnaeus, 1758)	33	3	8.55	17.73
<i>Nysius raphanus</i> (Howard, 1872)	67	3	22.53	19.06
<i>Orthotylus flavosparsus</i> (Sahlberg, 1842)	12	1	0.64	19.68
<i>Paratanus</i> sp. <sup>a</sup>	2	1	0.15	22.86
<i>Peridroma saucia</i> (Hubner, 1808)	174	1	2.10	6.08
<i>Phyllotreta</i> sp. <sup>a</sup>	2	1	1.38	22.07
<i>Phytocoris</i> sp. <sup>a</sup>	2	1	0	16.20
<i>Proba californica</i> (Knight, 1968)	4	2	1.92	16.20
<i>Rachiplusia nu</i> (Guenée, 1852)	12	2	5.65	5.08
<i>Rachiplusia</i> sp. <sup>a</sup>	6	1	0.30	5.08
<i>Spanagonicus</i> sp.1 <sup>a</sup>	7	1	0	19.52
<i>Spanagonicus</i> sp.2 <sup>a</sup>	6	1	0.15	19.43
<i>Spilosoma virginica</i> (Fabricius, 1798)	138	3	5.18	8.79
<i>Spodoptera eridania</i> (Stoll, 1781)	98	1	0.77	5.83
<i>Spodoptera frugiperda</i> (Smith, 1797)	38	2	2.27	5.57
<i>Spodoptera ochrea</i> (Hampson, 1909) <sup>a</sup>	16	1	0.61	5.57
<i>Spoladea recurvalis</i> (Fabricius, 1775)	163	1	1.95	9.72
<i>Symmetrischema</i> sp. <sup>a</sup>	2	1	0	6.93
<i>Therioaphis trifolii</i> (Monell, 1882)	382	2	14.95	9.71
<i>Trioza</i> sp. <sup>a</sup>	2	1	0	25.26

La correspondencia entre los taxones determinados mediante la taxonomía tradicional y los grupos definidos mediante BINs en BOLD resultó en una correspondencia de un 83.3% (55 taxones de 66), donde 37 especies y 18 morfoespecies presentan un único BIN, mientras que 10 especies y una morfoespecie presentan más de un BIN (Tabla 4). Dentro de los taxones que presentan dos BIN, están las especies *Lipaphis pseudobrassicae* Davis 1914, *Mythimna unipuncta* Haworth 1809, *Proba californica* Knight 1968, *Rachiplusia nu* Guenée 1852, *Spodoptera frugiperda* Smith 1797, *Therioaphis trifolii* Monell 1882, y el género *Epicauta* (representado por “*Epicauta* sp.”).

Por otro lado, las especies que presentan tres BIN son *Astylus subannulatus* Pic 1909, *Nezara viridula* Linnaeus 1758, *Nysius raphanus* Howard 1872, y *Spilosoma virginica* Fabricius 1798.

La relación de correspondencia entre los grupos definidos por caracteres moleculares y los definidos por la taxonomía tradicional, también puede ser observadas de forma gráfica en árboles de genes. Estos árboles pueden ser usados para identificar estadios adultos e inmaduros en casos de grupo de especies crípticas como el caso del género *Copitarsia* donde las especies pueden ser fácilmente agrupadas por sus secuencias COI (Fig. 3). En este sentido se construyó un árbol de genes mediante los métodos de *Maximum likelihood* e inferencia bayesiana para especímenes en estadio de larva y en estadio de adulto de tres especies del género *Copitarsia*; *Copitarsia corruda*, *Copitarsia decolora*, y *Copitarsia naenoides*. La estructura del árbol, resultó en la formación de tres grupos que corresponden con las especies nominales determinados por taxonomía tradicional y también tienen correspondencia con los BIN generados en la base de datos del BOLD Systems.

La estructura de los árboles de genes también puede mostrar grandes diferencias para poblaciones de una especie nominal. En este sentido, se construyó el árbol de genes para especímenes que corresponden a dos especies del género *Astylus*; *Astylus baeri* y *Astylus subannulatus* mediante los métodos de *Maximum likelihood* e inferencia bayesiana (Fig. 4). Para *A. baeri*, se tiene correspondencia entre el BIN generado en BOLD y la designación por taxonomía tradicional; sin embargo, para *A. subannulatus* se tienen tres grupos; un grupo corresponde a la población de Ayacucho y dos corresponden a poblaciones de Junín. Estos grupos tienen correspondencia con los BIN generados en la base de datos del BOLD Systems, pero no corresponden con la agrupación determinada por taxonomía tradicional.

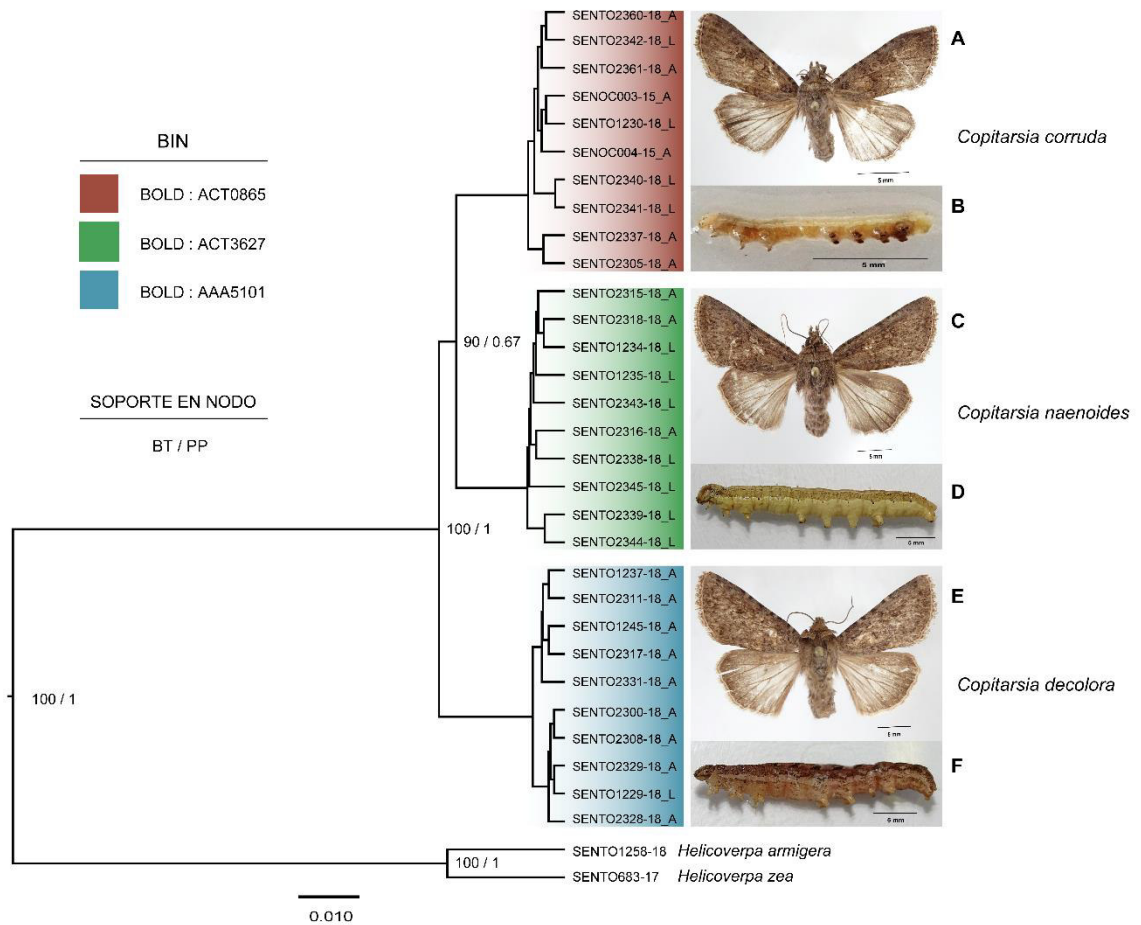


Figura 3: Árbol de genes para el género *Copitarsia* generado en BEAST2. BIN, *Barcode Index Number*. BT/PP indica el soporte de nodo, donde BT, Bootstrap generado en el análisis por *Máximo Likelihood* (ML); PP, Probabilidad posterior generado por inferencia bayesiana (IB) en BEAST2. A, *Copitarsia corruda* adulto; B, *C. corruda* larva; C, *C. naenoides* adulto; D, *C. naenoides* larva; E, *C. decolora* adulto; F, *C. decolora* larva.

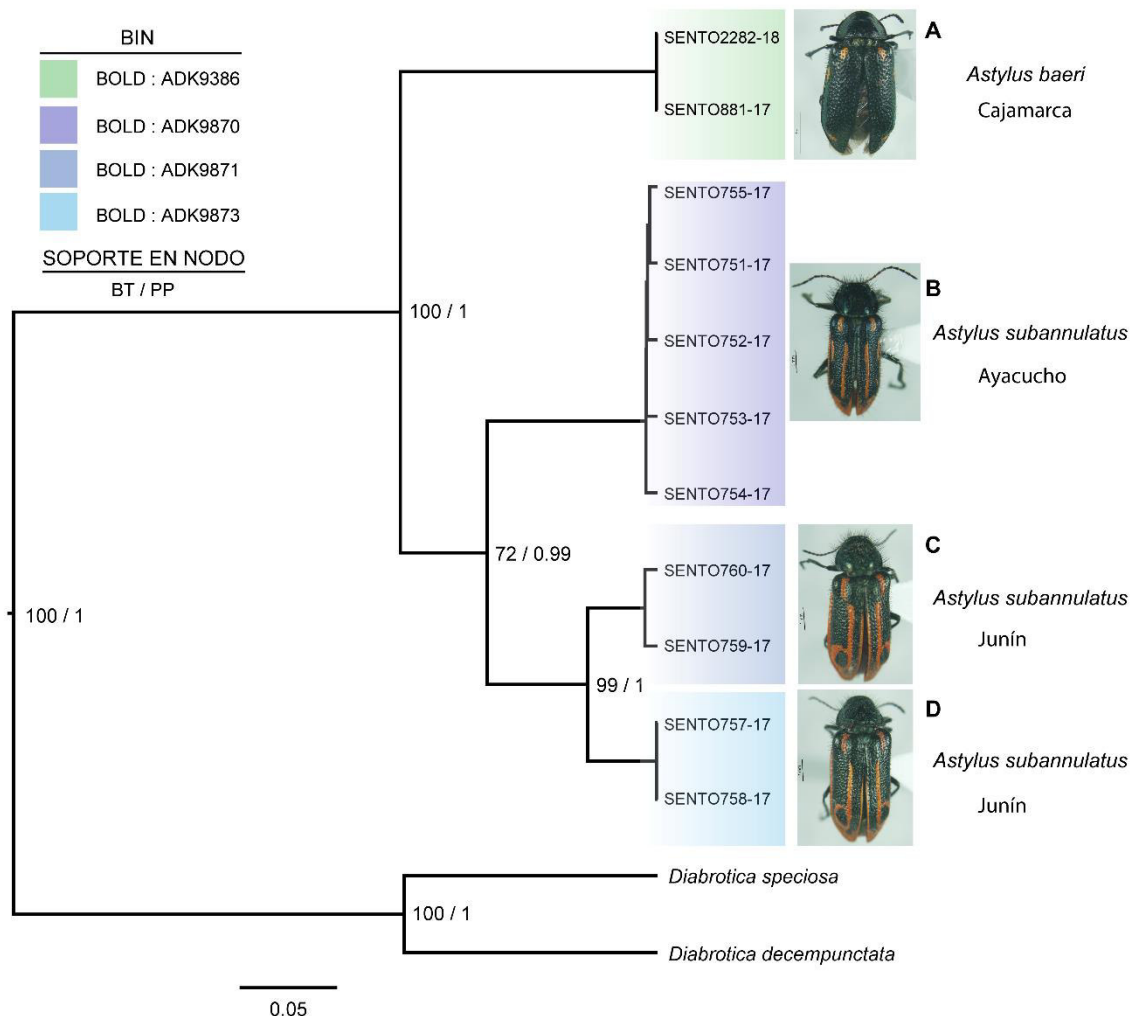


Figura 4: Árbol de genes para el género *Astylus* generado en BEAST2. BIN, *Barcode Index Number*. BT/PP indica el soporte de nodo, donde BT, Bootstrap generado en el análisis por *Máximo Likelihood* (ML); PP, Probabilidad posterior generado por inferencia bayesiana en BEAST2. A, *Astylus baeri*; B, *A. subannulatus* población de Ayacucho; C y D, *A. subannulatus* poblaciones de Junín.

Después de este estudio, la cobertura global de especies de insectos fitófagos de la quinua basados en los registros de secuencias COI en la plataforma de BOLD, muestra un valor del 68.04% (66 especies y/o morfoespecies de 97) (Tabla 5). Los órdenes con mayor cobertura son Lepidoptera y Hemiptera con el 84.21% y 65.62% respectivamente.

Los órdenes con mediana cobertura son Coleoptera, Diptera, y Orthoptera con 52.94%, 50%, y 50% respectivamente. El único orden sin cobertura es Thysanoptera.

Tabla 5: Avances en el desarrollo de la biblioteca de referencia de código de barras de ADN para especies de insectos plagas de quinua según los registros en BOLD, *Barcode of Life Data Systems*. (basado en los datos después del presente estudio).

ORDEN	Especies Plagas	Especies con secuencias en BOLD (A nivel de género)	Especies con único BIN	Especies con más de un BIN	Cobertura (%)
Coleoptera	17	9 (5)	7	2	52.94
Diptera	4	2 (1)	2	0	50
Hemiptera	32	21 (9)	17	4	65.62
Lepidoptera	38	32 (4)	27	5	84.21
Orthoptera	4	2	2	0	50
Thysanoptera	2	0	0	0	0
Total	97	66 (19)	55	11	68.04

BIN: Barcode Index Number

En cuanto a los análisis de distancias genéticas dentro de la biblioteca, las divergencias intraespecíficas oscilaron entre 0% a 22.53%, mientras que las divergencias interespecíficas oscilaron entre 1.35% a 52.17%. La mínima divergencia interespecífica fue de 1.35% entre *Copitarsia decolora* Guenée 1852 y *Copitarsia naenoides* Butler 1882, y la máxima intraespecífica distancia fue de 22.53% en *Nysius raphanus* Howard 1872 (Tabla 4).

Comparando las distancias intraespecíficas máximas con las distancias interespecíficas mínimas de las especies más cercanas, no se muestra la existencia de una brecha de código de barras de ADN para toda la biblioteca (brecha genética global) (Tabla 4, Fig. 5). El análisis de brecha genética a nivel local (brecha a nivel de taxón), muestra la existencia de brechas genéticas para 45 especies y 18 morfoespecies; sin embargo, cinco especies no muestran la existencia de tal brecha a nivel local (Figs. 5A, 5B).

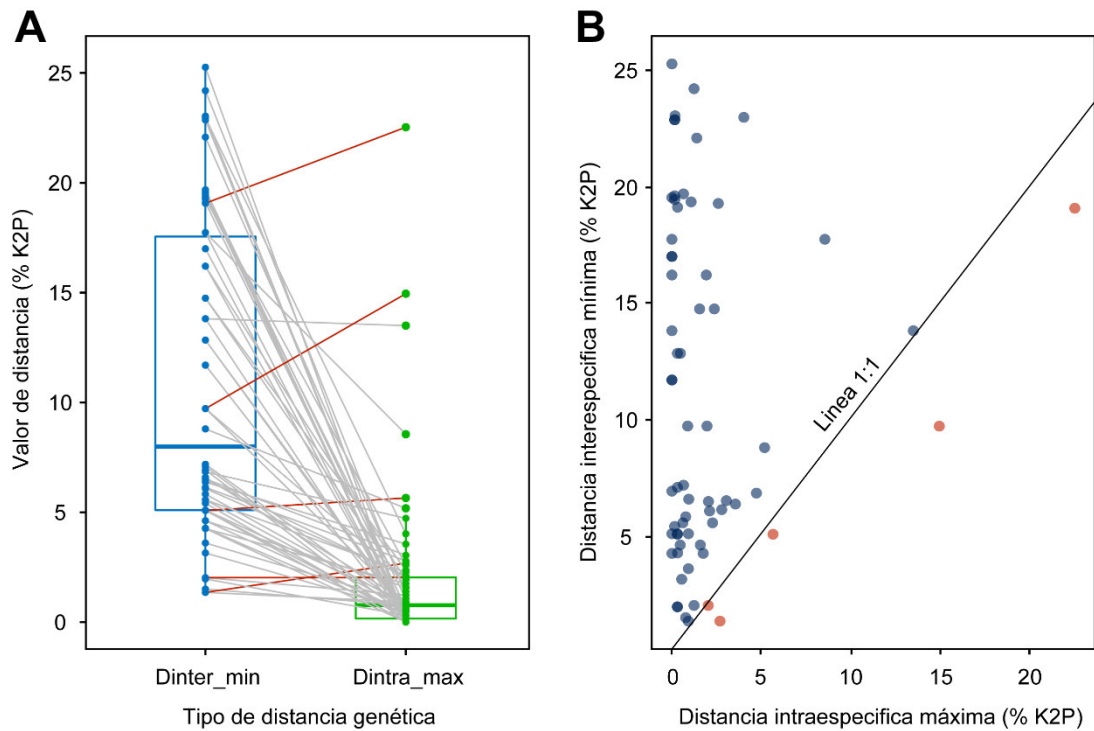


Figura 5: Representación gráfica de la existencia de brecha de código de barras de ADN para insectos fitófagos de quinua. A, Comparación de las distancias interespecíficas mínimas (Dinter\_min) con las distancias intraespecíficas máximas (Dintra\_max), las líneas representan a cada especie que enlaza a sus respectivas distancias, donde las líneas rojas indican distancias intraespecíficas máximas más grandes que las distancias interespecíficas mínimas, resultando en la no existencia de una brecha genética para dichas especies. B, Comparación de las distancias intraespecíficas máximas con las distancias intraespecíficas mínimas en una línea 1:1, donde los puntos que caen arriba de tal línea, son los que presentan una brecha de código de barras de ADN, mientras que los puntos que caen debajo, son los que carecen de tal brecha.

El valor del umbral de distancia genética para identificación de especímenes determinada por la función *threshOpt* fue de 0.014 (Fig. 6A) en donde el error mínimo de identificación fue de 0.22%, mientras que la función *localMinima* determinó un umbral de 0.015 (Fig. 6B).

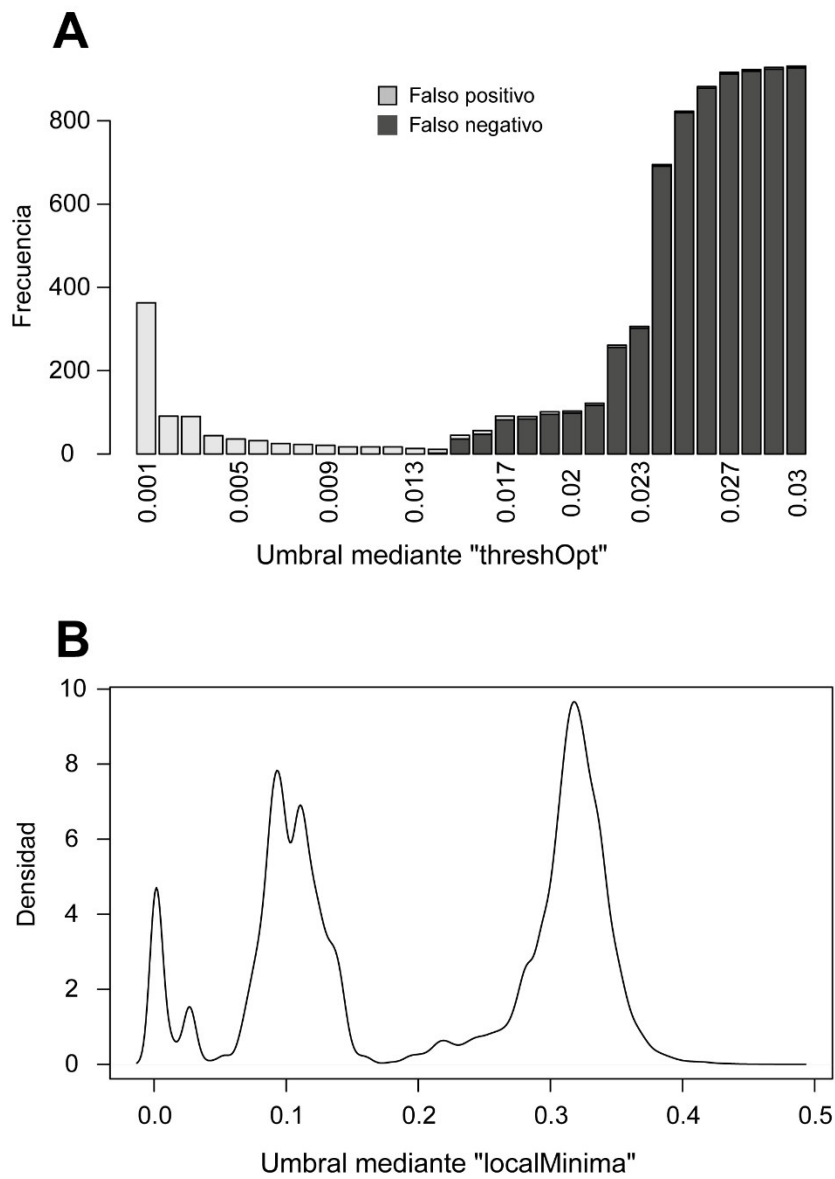


Figura 6: Determinación del umbral para la identificación de especímenes de insectos fitófagos de la quinua. A, Frecuencia de error acumulado basado en falsos positivos más falsos negativos para cada valor de umbral hasta 0.03 calculado mediante la función *threshOpt* en R, el umbral optimo es donde el error acumulado sea mínimo, para este caso el umbral optimo es 0.014, donde el error mínimo es de 0.22%; B, La gráfica de densidad indica la transición entre distancias intra e interespecíficas; el umbral calculado con la función *localMinima* en R, correspondiente a esta transición indica un valor de 0.015.



Al evaluar la eficacia del Código de barras de ADN basado en este umbral, se encontró que las secuencias COI se desempeñaron muy bien al asignar secuencias de ADN a la especie correcta (Tabla 6). Por ejemplo, con el método de BM, el 99.95% de las secuencias COI se identificaron correctamente (4166 especímenes de 4168) y un 0.05% (dos especímenes de 4168) de identificación incorrecta. Con el umbral de 0.01, tanto BCM como CB proveyeron con el 99.59% (4151 especímenes de 4168) de identificaciones correctas y un 0.41% (17 especímenes de 4168) como *No ID*. Con un umbral de 0.014, el método de BCM logró una identificación correcta del 99.78% (4159 especímenes de 4168) y solo un 0.22% (nueve especímenes de 4168) sin identificar (*No ID*); mientras que el enfoque de CB para el mismo umbral de 0.014, proveyó con el 99.73% (4157 especímenes de 4168) de identificaciones correctas, un 0.05% (dos especímenes de 4168) como identificación ambigua, y un 0.22% (nueve especímenes de 4168) como *No ID*. Con un umbral de 0.015, el análisis mediante BCM mostró el mismo patrón de identificación que el umbral de 0.014, mientras que CB registró un 98.92% (4123 especímenes de 4168) de correctas identificaciones y un 0.86% (36 especímenes de 4168) de identificaciones ambiguas, y un 0.22% (nueve especímenes de 4168) como *No ID*.

Tabla 6: Desempeño del código de barras de ADN en la identificación de insectos fitófagos del cultivo de quinua. BM, *Best match*; BCM, *Best close match*; CB, Criterio de BOLD. Los umbrales de identificación usados fueron de 1%, 1.4%, y 1.5%.

IDENTIFI- CACION	BM	BCM			CB		
		1	1.4	1.5	1	1.4	1.5
Correcto	4166 (99.95%)	4151 (99.59%)	4159 (99.78%)	4159 (99.78%)	4151 (99.59%)	4157 (99.73%)	4123 (98.92%)
Incorrecto	2 (0.05%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Ambiguo	-	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (0.05%)	36 (0.86%)
No ID	-	17 (0.41%)	9 (0.22%)	9 (0.22%)	17 (0.41%)	9 (0.22%)	9 (0.22%)

## VI. DISCUSIÓN

Nanney (1982) propuso por primera vez al código de barras de ADN como una técnica para acelerar la identificación de especies dentro de los microorganismos, sin embargo, ahora se ha generalizado como un método potencial que puede ayudar a caracterizar y descubrir nuevas especies en grupos taxonómicos más amplios (Hebert *et al.*, 2004; Van der Bank *et al.*, 2012).

Para que la técnica del código de barras de ADN funcione de un modo correcto, es requisito que exista una brecha de código de barras de ADN (*DNA barcode gap*) (Meyer y Paulay, 2005), es decir, una mayor variación genética entre las especies que las variaciones genéticas que ocurren entre poblaciones dentro de una misma especie (Hebert *et al.*, 2003a). El análisis realizado por pares (comparación de las distancias por especie) reveló la existencia de un *DNA barcode gap* para 61 especies y morfoespecies, mientras que cinco especies no mostraron la existencia de tal *DNA barcode gap* (Fig. 5), pues sus divergencias intraespecíficas máximas fueron más grandes que sus divergencias interespecíficas más pequeñas (Tabla 4). Este fenómeno podría estar mostrando la existencia de complejos de especies crípticas, representados por más de un BIN en BOLD, por ejemplo, *Nysius raphanus*, *Rachiplusia nu*, y *Therioaphis trifolii* presentan tres, dos, y dos BINs respectivamente (Tabla 4) o casos de mala identificación por taxonomía tradicional, es decir, cuando a un espécimen se le atribuye la etiqueta de una especie incorrecta. De modo particular, *N. raphanus* y *T. trifolii* muestran valores muy altos en sus divergencias intraespecíficas máximas (22.53% y 14.85% respectivamente), incluso mucho más alto que el resto de taxones con más de un BIN (excepto con *Astylus subannulatus* cuya divergencia intraespecífica máxima es de 13.49%). Si se compara *Rachiplusia nu* de divergencia intraespecífica máxima de 5.65% con su congénere *Rachiplusia* sp. con divergencia intraespecífica máxima de 0.30%, se hace evidente la fuerte sugerencia de que *R. nu* en realidad consista de dos especies como los BIN representados en BOLD. Para el caso de *Copitarsia decolora* y *Helicoverpa armigera*, especies con único BIN pero que carecen de un *DNA barcode*

*gap* parece ser efecto de la escala geográfica (Bergsten *et al.*, 2012) y a la gran diversidad de haplotipos que presentan estas especies. *C. decolora* forma parte del denominado complejo *Copitarsia decolora* (Pogue y Simmons, 2008) que comprende a cuatro especies de polillas muy estrechamente relacionadas. La gran distribución geográfica (Cruces *et al.*, 2016) que abarca esta especie, podrían estar causando que *C. decolora* presente una alta divergencia intraespecífica máxima de 2.68% incluso mayor que su mínimo divergencia interespecífica de 1.35% dejando como resultado a la inexistencia de un *DNA barcode gap*; sin embargo, dicha inexistencia de un *DNA barcode gap* no influye en las identificaciones mediante la simulación en R, más aun, de forma gráfica, se puede observar que todos los especímenes dentro de *C. decolora* forman un grupo muy bien definido en el árbol de genes analizado (Fig. 3). Este grupo corresponde con el determinado por taxonomía tradicional y el generado mediante BIN en la base de datos del BOLD Systems. El caso para la inexistencia de un *DNA barcode gap* en *H. armigera*, una especie de polilla plaga de gran importancia a nivel mundial, podría deberse a la gran diversidad de haplotipos (Mastrangelo *et al.*, 2014; Pinto *et al.*, 2017) que presenta principalmente por su amplia distribución geográfica, pues está presente en Europa, Africa, Asia, Australasia y en América, esta especie ya ha sido introducida a países como Argentina, Bolivia, Brazil, Paraguay, Puerto Rico, y Uruguay (Kriticos *et al.*, 2015).

De modo general, los taxones que presentan un *DNA barcode gap* pero que a la vez muestren discordancia entre las asignaciones por la taxonomía tradicional, los determinados según los BINs, pueden ser sugerentes de que algunas de las BINs en realidad se traten de especies separadas. Por ejemplo, *Astylus subannulatus* está representado por tres BINs (Tabla 4), estos BINs corresponden con un grupo determinado para la población de Ayacucho y dos grupos para la población de Junín (Fig. 4). Según la topología del árbol de genes para esta especie, aunado a la ligera variación morfológica en los élitros, sugeriría la fuerte hipótesis de que *A. subannulatus* se trate de un complejo de especies crípticas conformado por dos especies distintas;

uno para la población de Ayacucho y otra para la población de Junín. La resolución de todas estas discordancias entre las asignaciones hechas por la taxonomía tradicional y las designaciones genéticas representadas por los BIN tendrán que realizarse en estudios caso por caso en donde se traten de incluir a la mayoría de especies dentro de cada género y donde se incluya información morfológica, ecológica, genética en un enfoque integrativo (Pante *et al.*, 2015).

La simulación de identificación de 4168 especímenes mediante comparación de sus secuencias COI en la biblioteca de código de barras de ADN para los insectos fitófagos del cultivo de quinua realizada en R, reveló un excelente rendimiento con más del 99% en los tres métodos de identificación (Tabla 6), excepto para el enfoque de CB (criterio de BOLD) que en el umbral de 1.5%, solo tuvo un 98.92% de éxito de identificación.

Si se compara los rendimientos de identificación correcta según los valores de umbrales en los cuales se haya realizado los análisis, ambos enfoques (BCM y CB) resultaron con incremento en los rendimientos en el valor de umbral óptimo de identificación de 0.014. Dicho umbral es particular y debe ser calculada específicamente para cada biblioteca de código de barras de ADN que se pretenda analizar.

El enfoque de BCM no reportó identificaciones ambiguas para los valores de umbrales usados. El criterio de BOLD es más restrictivo que el método de *Best close match*, pues este último, solamente se observa en la coincidencia más cercana por debajo de un umbral definido, mientras que el criterio de BOLD asigna una coincidencia de acuerdo con todas las secuencias por debajo de ese umbral. Por lo tanto, cuando las secuencias de diferentes especies tienen valores de distancias que caen por debajo del umbral, el criterio de BOLD devuelve identificaciones ambiguas. Esta alta proporción de identificación ambigua podría deberse a la posibilidad de encontrar especies estrechamente relacionadas, en donde la divergencia interespecífica sea relativamente pequeña, con una mayor probabilidad de que las secuencias de dichas especies caigan por debajo del umbral, apareciendo identificaciones más ambiguas.

Las identificaciones mediante el uso de bibliotecas de códigos de barras de ADN están íntimamente relacionadas a que tan bien están definidas las especies que conforman dicha biblioteca. Basado en los resultados mostrados por este estudio, podría inferirse que la biblioteca está muy bien curada y que la inexistencia de un *DNA barcode gap*, no es muy influyente en las identificaciones de las especies presentes en ella, pues para más del 99% de los especímenes se logró encontrar el nombre del taxón al cual pertenecen.

Los valores de umbrales para los cuales se muestran un gran éxito de identificación, son exclusivos para esta biblioteca, por lo tanto, no pueden ser aplicados a otras bibliotecas como base para las identificaciones de los especímenes que contengan. Los valores de umbrales de identificación que se obtienen en R, vienen por resultado de análisis estadísticos que arrojan solamente valores de umbrales óptimos para el cual se espera que se maximice las tasas de éxito en las identificaciones de especímenes, por lo que se ahorra el afán de buscar algún umbral óptimo de entre muchos valores posibles.

En el presente estudio, el código de barras de ADN ha demostrado ser una excelente herramienta para las identificaciones rápidas de muchos grupos taxonómicos y su uso tiene gran implicancia en muchas áreas de investigación, particularmente en el campo de la agricultura, para una identificación de los insectos considerados como plagas.

## VII. CONCLUSIONES

- El código de barras de ADN es una herramienta precisa y muy útil para la identificación rápida de insectos asociados al cultivo de quinua, pues para este estudio se obtuvo más del 99% en identificaciones correctas.
- La biblioteca de código de barras de ADN elaborada en este estudio cubre un 68% de las especies de insectos asociados a cultivos de quinua.
- La base de datos que aquí se presenta constituye una biblioteca muy bien curada y por lo tanto puede ser implementada en las agencias de control de plagas para la identificación rápida de insectos de la quinua mediante la técnica del código

de barras de ADN.

## VIII. RECOMENDACIONES

- Se recomienda ampliar la escala de colecta, para abarcar el 32% de insectos que aun no ha sido colectado.
- Se recomienda determinar todos los insectos a nivel de especie, no solamente hasta morfoespecie.
- Se recomienda revisar de modo exhaustivo los grupos de insectos que tengan discordancia entre BIN y la taxonomía tradicional.

## IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADRION, J.R., KOUSATHANAS, A., PASCUAL, M., BURRACK, H.J., HADDAD, N.M., BERGLAND, A.O., MACHADO, H., SACKTON, T.B., SCHLENKE, T.A., WATADA, M., WEGMANN, D. y SINGH, N.D., 2014. *Drosophila suzukii*: the genetic footprint of a recent, worldwide invasion. *Molecular Biology and Evolution*, vol. 31, no. 12, pp. 3148-3163. ISSN 1537-1719.
- AMIN, S., SCHEFFER, S.J., LEWIS, M.L., PASHA, M.K. y BHUIYA, B.A., 2014. DNA barcoding of the vegetable leafminer *Liriomyza sativae* Blanchard (Diptera: Agromyzidae) in Bangladesh. *DNA Barcodes*, vol. 2, no. 1, pp. 29-33. ISSN 2299-1077.
- ARMSTRONG, K., 2010. DNA barcoding: a new module in New Zealand's plant biosecurity diagnostic toolbox. *EPPO Bulletin*, vol. 40, no. 1, pp. 91-100. ISSN 02508052.
- ASCUNCE, M.S., ERNST, J.A., CLARK, A. y NIGG, H.N., 2008. Mitochondrial nucleotide variability in invasive populations of the root weevil *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae) of Florida and preliminary assessment of *Diaprepes* sp. from Dominica. *Journal of Economic Entomology*, vol. 101, no. 4, pp. 1443-1454. ISSN 1938-291X.
- ASHFAQ, M., ARA, J., NOOR, A.R., HEBERT, P.D.N. y MANSOOR, S., 2011. Molecular phylogenetic analysis of a scale insect (*Drosicha mangiferae*; Hemiptera: Monophlebidae) infesting mango orchards in Pakistan. *European Journal of Entomology*, vol. 108, no. 4, pp. 553-559. ISSN 12105759.
- ASHFAQ, M., HEBERT, P.D.N., MIRZA, M.S., KHAN, A.M., MANSOOR, S., SHAH, G.S. y ZAFAR, Y., 2014. DNA barcoding of *Bemisia tabaci* complex (Hemiptera: Aleyrodidae) reveals southerly expansion of the Dominant whitefly species on cotton in Pakistan. *PLoS ONE*, vol. 9, no. 8, pp. e104485. ISSN 1932-6203.

- ASHFAQ, M., PROSSER, S., NASIR, S., MASOOD, M., RATNASINGHAM, S. y HEBERT, P.D.N., 2015. High diversity and rapid diversification in the head louse, *Pediculus humanus* (Pediculidae: Phthiraptera). *Scientific Reports*, vol. 5, no. 1, pp. 1-13. ISSN 2045-2322.
- AUKEMA, J.E., LEUNG, B., KOVACS, K., CHIVERS, C., BRITTON, K.O., ENGLIN, J., FRANKEL, S.J., HAIGHT, R.G., HOLMES, T.P., LIEBHOLD, A.M., MCCULLOUGH, D.G. y VON HOLLE, B., 2011. Economic impacts of non-native forest insects in the continental United States. *PLoS ONE*, vol. 6, no. 9, pp. e24587. ISSN 1932-6203.
- BALL, S.L. y ARMSTRONG, K.F., 2006. DNA barcodes for insect pest identification: a test case with tussock moths (Lepidoptera: Lymantriidae). *Canadian Journal of Forest Research*, vol. 36, no. 2, pp. 337-350. ISSN 0045-5067.
- BELLIS, G.A., GOPURENKO, D., COOKSON, B., POSTLE, A.C., HALLING, L., HARRIS, N., YANASE, T. y MITCHELL, A., 2015. Identification of incursions of *Culicoides latreille* species (Diptera: Ceratopogonidae) in Australasia using morphological techniques and DNA barcoding: identification of *Culicoides*. *Austral Entomology*, vol. 54, no. 3, pp. 332-338. ISSN 2052174X.
- BERGSTEN, J., BILTON, D.T., FUJISAWA, T., ELLIOTT, M., MONAGHAN, M.T., BALKE, M., HENDRICH, L., GEIJER, J., HERRMANN, J., FOSTER, G.N., RIBERA, I., NILSSON, A.N., BARRACLOUGH, T.G. y VOGLER, A.P., 2012. The effect of geographical scale of sampling on DNA barcoding. *Systematic Biology*, vol. 61, no. 5, pp. 851-869. ISSN 1063-5157.
- BHARGAVA, A., SHUKLA, S. y OHRI, D., 2006. *Chenopodium quinoa*—an indian perspective. *Industrial Crops and Products*, vol. 23, no. 1, pp. 73-87. ISSN 09266690.
- BHARGAVA, A. y SRIVASTAVA, S., 2013. *Quinoa: botany, production and uses*. Wallingford, Oxfordshire, UK; Boston, MA: CABI. ISBN 978-1-78064-226-0.
- BIOVERSITY INTERNATIONAL, FAO, PROINPA, INIAF y FIDA, 2013. *Descriptores para quinua (Chenopodium quinoa Willd.) y sus parientes silvestres*. Roma, Italia; La Paz, Bolivia: Bioversity International, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Fundación PROINPA, Instituto Nacional de Innovación Agropecuaria y Forestal, Fondo Internacional de Desarrollo Agrícola. ISBN 978-92-9043-927-1.
- BLACKET, M.J., RICE, A.D., SEMERARO, L. y MALIPATIL, M.B., 2015. DNA-based identifications reveal multiple introductions of the vegetable leafminer *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae) into the Torres Strait Islands and Papua New Guinea. *Bulletin of Entomological Research*, vol. 105, no. 5, pp. 533-544. ISSN 0007-4853.
- BLACKET, M.J., SEMERARO, L. y MALIPATIL, M.B., 2012. Barcoding Queensland fruit flies (*Bactrocera tryoni*): impediments and improvements. *Molecular Ecology Resources*, vol. 12, no. 3, pp. 428-436. ISSN 1755098X.
- BLAGOEV, G.A., DEWAARD, J.R., RATNASINGHAM, S., DEWAARD, S.L., LU, L., ROBERTSON, J., TELFER, A.C. y HEBERT, P.D.N., 2016. Untangling taxonomy: a DNA barcode reference library for Canadian spiders. *Molecular Ecology Resources*, vol. 16, no. 1, pp. 325-341. ISSN 1755098X.

- BOUCKAERT, R., HELED, J., KÜHNERT, D., VAUGHAN, T., WU, C.-H., XIE, D., SUCHARD, M.A., RAMBAUT, A. y DRUMMOND, A.J., 2014. BEAST 2: A software platform for bayesian evolutionary analysis. *PLOS Computational Biology*, vol. 10, no. 4, pp. e1003537. ISSN 1553-7358.
- BROWER, A.V.Z., 2006. Problems with DNA barcodes for species delimitation: 'Ten species' of *Astrartes fuligator* reassessed (Lepidoptera: HesperIIDae). *Systematics and Biodiversity*, vol. 4, no. 2, pp. 127-132. ISSN 1477-2000.
- BROWN, S.D.J., COLLINS, R.A., BOYER, S., LEFORT, M.-C., MALUMBRES-OLARTE, J., VINK, C.J. y CRUICKSHANK, R.H., 2012. SPIDER: An R package for the analysis of species identity and evolution, with particular reference to DNA barcoding. *Molecular Ecology Resources*, vol. 12, no. 3, pp. 562-565. ISSN 1755098X.
- BURCKHARDT, D., 1988. Jumping plant lice (Homoptera: Psylloidea) of the temperate neotropical region. Part 3: Calophyidae and Triozidae. *Zoological Journal of the Linnean Society*, vol. 92, no. 2, pp. 115-191. ISSN 00244082.
- BURNS, J.M., JANZEN, D.H., HAJIBABAEI, M., HALLWACHS, W. y HEBERT, P.D.N., 2008. DNA barcodes and cryptic species of skipper butterflies in the genus *Perichares* in Area de Conservacion Guanacaste, Costa Rica. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 105, no. 17, pp. 6350-6355. ISSN 0027-8424.
- CABALLERO, B., TRUGO, L.C. y FINGLAS, P.M., 2003. *Encyclopedia of food sciences and nutrition*. 2nd ed. New York, NY: Academic Press, Inc. ISBN 0-12-227055-X.
- CABRERA, N., 2001a. Estudio sistemático de *Diabrotica* Chevrolat grupo fucata en la Argentina I. (Coleoptera, Chrysomelidae). *Physis. Secciones A, B y C*, vol. 58, no. 134/135, pp. 47-56. ISSN 0326-1441.
- CABRERA, N., 2001b. Estudio sistemático de *Diabrotica* Chevrolat grupo fucata en la Argentina II. (Coleoptera, Chrysomelidae). *Physis. Secciones A, B y C*, vol. 58, no. 134/135, pp. 57-66. ISSN 0326-1441.
- ČANDEK, K. y KUNTNER, M., 2015. DNA barcoding gap: reliable species identification over morphological and geographical scales. *Molecular Ecology Resources*, vol. 15, no. 2, pp. 268-277. ISSN 1755098X.
- CAVALLERI, A. y MOUND, L.A., 2012. Toward the identification of *Frankliniella* species in Brazil (Thysanoptera, Thripidae). *Zootaxa*, vol. 3270, pp. 1-30. ISSN 1175-5326.
- CESARI, M., MAISTRELLO, L., GANZERLI, F., DIOLI, P., REBECCHI, L. y GUIDETTI, R., 2015. A pest alien invasion in progress: potential pathways of origin of the brown marmorated stink bug *Halyomorpha halys* populations in Italy. *Journal of Pest Science*, vol. 88, no. 1, pp. 1-7. ISSN 1612-4758.
- CHABOO, C.S. y CLARK, S., 2015. Beetles (Coleoptera) of Peru: A survey of the families. Chrysomelidae: Galerucinae (not including Alticini). *Journal of the Kansas Entomological Society*, vol. 88, no. 3, pp. 361-367. ISSN 0022-8567.
- CHOWDA-REDDY, R., KIRANKUMAR, M., SEAL, S.E., MUNIYAPPA, V., VALAND, G.B., GOVINDAPPA, M. y COLVIN, J., 2012. *Bemisia tabaci* phylogenetic groups in India and the relative transmission efficacy of tomato leaf curl Bangalore virus



- by an indigenous and an exotic population. *Journal of Integrative Agriculture*, vol. 11, no. 2, pp. 235-248. ISSN 20953119.
- CHOWDHURY, G.R., DATTA, U., ZAMAN, S. y MITRA, A., 2017. Ecosystem services of insects. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, vol. 1, no. 2. ISSN 25741241.
- CHOWN, S.L., SINCLAIR, B.J. y VAN VUUREN, B.J., 2008. DNA barcoding and the documentation of alien species establishment on sub-Antarctic Marion Island. *Polar Biology*, vol. 31, no. 5, pp. 651-655. ISSN 0722-4060.
- CODONCODE CORPORATION, 2017. *CodonCode Aligner* [en línea]. en. S.l.: s.n. Disponible en: <https://www.codoncode.com>.
- CONSTANTIN, R., 2011. A contribution to the genus *Astylus* Laporte de Castelnau, 1836, in Ecuador, with descriptions of three new species (Coleoptera, Melyridae). *Entomologica Basiliensia et Collectionis Frey*, vol. 33, pp. 39-61. ISSN 1661-8041.
- CRUCES, L.M., CALLOHUARI, Y. y CARRERA, C., 2016. *Quinua manejo integrado de plagas: Estrategias en el cultivo de la quinua para fortalecer el sistema agroalimentario en la zona andina*. Santiago: Organización de las naciones unidas para la alimentación de la agricultura FAO. ISBN 978-92-5-309378-6.
- DARRIBA, D., TABOADA, G.L., DOALLO, R. y POSADA, D., 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, vol. 9, no. 8, pp. 772-772. ISSN 1548-7105.
- DAVIS, G.A., HAVILL, N.P., ADELMAN, Z.N., CACCONE, A., KOK, L.T. y SALOM, S.M., 2011. DNA barcodes and molecular diagnostics to distinguish an introduced and native *Laricobius* (Coleoptera: Derodontidae) species in eastern North America. *Biological Control*, vol. 58, no. 1, pp. 53-59. ISSN 10499644.
- DE BARRO, P. y AHMED, M.Z., 2011. Genetic networking of the *Bemisia tabaci* cryptic species complex reveals pattern of biological invasions. *PLoS ONE*, vol. 6, no. 10, pp. e25579. ISSN 1932-6203.
- DELOMEN, M.L.C., MENDIORO, M.S. y DIAZ, M.G.Q., 2013. Morphometric analysis and DNA barcoding of fruit flies *Bactrocera occipitalis* (Bezzi) and *B. philippinensis* Drew and Hancock (Diptera: Tephritidae) from Cavite and Davao del Norte. *Philippine Journal of Science*, vol. 142, no. 1, pp. 69-76. ISSN 0031-7683.
- DEROCLES, S.A.P., EVANS, D.M., NICHOLS, P.C., EVANS, S.A. y LUNT, D.H., 2015. Determining plant – leaf miner – parasitoid interactions: a DNA barcoding approach. *PLOS ONE*, vol. 10, no. 2, pp. e0117872. ISSN 1932-6203.
- DEWAARD, J.R., IVANOVA, N.V., HAJIBABAEI, M. y HEBERT, P.D.N., 2008. Assembling DNA Barcodes. En: C.C. MARTIN (ed.), *Environmental Genomics*. Totowa, NJ: Humana Press, Methods in Molecular Biology, 410, pp. 275-294. ISBN 978-1-58829-777-8.
- DICKEY, A.M., KUMAR, V., HODDLE, M.S., FUNDERBURK, J.E., MORGAN, J.K., JARA-CAVIERES, A., SHATTERS, R.G.J., OSBORNE, L.S. y MCKENZIE, C.L., 2015. The *Scirtothrips dorsalis* species complex: endemism and invasion in a global pest. *PLOS ONE*, vol. 10, no. 4, pp. e0123747. ISSN 1932-6203.

- DINCĂ, V., MONTAGUD, S., TALAVERA, G., HERNÁNDEZ-ROLDÁN, J., MUNGUIRA, M.L., GARCÍA-BARROS, E., HEBERT, P.D.N. y VILA, R., 2015. DNA barcode reference library for Iberian butterflies enables a continental-scale preview of potential cryptic diversity. *Scientific Reports*, vol. 5, no. 1, pp. 1-12. ISSN 2045-2322.
- EKREM, T., WILLASSEN, E. y STUR, E., 2007. A comprehensive DNA sequence library is essential for identification with DNA barcodes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, vol. 43, no. 2, pp. 530-542. ISSN 10557903.
- ERLANDSON, M., BRAUN, L., BALDWIN, D., SOROKA, J., ASHFAQ, M. y HEGEDUS, D., 2003. Molecular markers for *Peristenus* spp. (Hymenoptera: Braconidae) parasitoids associated with *Lygus* spp. (Hemiptera: Miridae). *The Canadian Entomologist*, vol. 135, no. 1, pp. 71-83. ISSN 0008-347X.
- ETZLER, F.E., WANNER, K.W., MORALES-RODRIGUEZ, A. y IVIE, M.A., 2014. DNA barcoding to improve the species-level management of wireworms (Coleoptera: Elateridae). *Journal of Economic Entomology*, vol. 107, no. 4, pp. 1476-1485. ISSN 00220493.
- FAO, 2011. *How does international price volatility affect domestic economies and food security?* Rome: FAO. The state of food insecurity in the world, 2011. ISBN 978-92-5-106927-1.
- FLOYD, R., LIMA, J., DEWAARD, J., HUMBLE, L. y HANNER, R., 2010. Common goals: policy implications of DNA barcoding as a protocol for identification of arthropod pests. *Biological Invasions*, vol. 12, no. 9, pp. 2947-2954. ISSN 1387-3547.
- FOLMER, O., BLACK, M., HOEH, W., LUTZ, R. y VRIJENHOEK, R., 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, vol. 3, no. 5, pp. 294-299.
- FOOTTIT, R.G., MAW, H.E.L., VON DOHLEN, C.D. y HEBERT, P.D.N., 2008. Species identification of aphids (Insecta: Hemiptera: Aphididae) through DNA barcodes. *Molecular Ecology Resources*, vol. 8, no. 6, pp. 1189-1201. ISSN 1755098X.
- FREWIN, A., SCOTT-DUPREE, C. y HANNER, R., 2013. DNA barcoding for plant protection: applications and summary of available data for arthropod pests. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, vol. 8, no. 18, pp. 1-13. ISSN 17498848.
- FREWIN, A.J., SCOTT-DUPREE, C., MURPHY, G. y HANNER, R., 2014. Demographic trends in mixed *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) cryptic species populations in commercial poinsettia under biological control- and insecticide-based management. *Journal of Economic Entomology*, vol. 107, no. 3, pp. 1150-1155. ISSN 00220493.
- GANDARILLAS, A., SARAVIA, R., PLATA, G., QUISPE, R. y ORTIZ-ROMERO, R., 2015. Principle Quinoa Pests and Diseases. En: D. BAZILE, D. BERTERO y C. NIETO (eds.), *State of the Art Report of Quinoa in the World in 2013*. Rome: FAO & CIRAD, pp. 192-215. ISBN 978-92-5-108558-5.

- GESTIÓN, 2017. Perú se mantiene como primer productor y exportador mundial de quinua y supera a Bolivia. *Gestion* [en línea]. [Consulta: 31 octubre 2018]. Disponible en: <https://gestion.pe/peru/peru-mantiene-primer-productor-y-exportador-mundial-quinua-y-supera-bolivia-223502>.
- GONZÁLEZ, J.A., EISA, S.S.S., HUSSIN, S.A.E.S. y PRADO, F.E., 2015. Quinoa: An Incan Crop to Face Global Changes in Agriculture. En: K. MURPHY y J. MATANGUIHAN (eds.), *Quinoa: Improvement and Sustainable Production*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc, pp. 1-18. ISBN 978-1-118-62804-1.
- GUL, H., BAJWA, G.A. y PANHWAR, G.N., 1997. Integrated control of mango mealy bug *Drosicha stebbingi* green (Hemiptera: Margarodidae) infesting forestry tree species at the Pakistan Forest Institute, Peshawar (Pakistan). *Pakistan Journal of Forestry (Pakistan)*, vol. 47, pp. 65-72. ISSN 0030-9818.
- GWIAZDOWSKI, R.A., FOOTIT, R.G., MAW, H.E.L. y HEBERT, P.D.N., 2015. The Hemiptera (Insecta) of Canada: constructing a reference library of DNA barcodes. *PLOS ONE*, vol. 10, no. 4, pp. e0125635. ISSN 1932-6203.
- HARRISON, R.G. y LARSON, E.L., 2014. Hybridization, introgression, and the nature of species boundaries. *Journal of Heredity*, vol. 105, no. S1, pp. 795-809. ISSN 0022-1503.
- HAUSMANN, A., GODFRAY, H.C.J., HUEMER, P., MUTANEN, M., ROUGERIE, R., VAN NIEUKERKEN, E.J., RATNASINGHAM, S. y HEBERT, P.D.N., 2013. Genetic patterns in European geometrid moths revealed by the barcode index number (BIN) system. *PLoS ONE*, vol. 8, no. 12, pp. e84518. ISSN 1932-6203.
- HEBERT, P.D.N., CYWINSKA, A., BALL, S.L. y DEWAARD, J.R., 2003a. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, vol. 270, no. 1512, pp. 313-321. ISSN 0962-8452.
- HEBERT, P.D.N., PENTON, E.H., BURNS, J.M., JANZEN, D.H. y HALLWACHS, W., 2004. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 101, no. 41, pp. 14812-14817. ISSN 0027-8424.
- HEBERT, P.D.N., RATNASINGHAM, S. y DEWAARD, J.R., 2003b. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, vol. 270, no. Suppl\_1, pp. S96-S99. ISSN 0962-8452.
- HENDRICH, L., MORINIÈRE, J., HASZPRUNAR, G., HEBERT, P.D.N., HAUSMANN, A., KÖHLER, F. y BALKE, M., 2015. A comprehensive DNA barcode database for Central European beetles with a focus on Germany: adding more than 3500 identified species to BOLD. *Molecular Ecology Resources*, vol. 15, no. 4, pp. 795-818. ISSN 1755098X.
- HENDRICH, J., VERA, T., DE MEYER, M. y CLARKE, A., 2015. Resolving cryptic species complexes of major tephritid pests. *ZooKeys*, vol. 540, pp. 5-39. ISSN 1313-2970.
- HERATY, J., 2017. Parasitoid Biodiversity and Insect Pest Management. En: R.G. FOOTIT y P.H. ADLER (eds.), *Insect Biodiversity: Science and Society*. 2nd Ed. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, pp. 603-625. ISBN 978-1-118-94556-8.

- HODKINSON, I.D. y WHIE, I.M., 1979. *Homoptera: Psylloidea*. A. London, England: Royal Entomological Society of London. Handbooks for the Identification of British Insects.
- HUEMER, P., KARSHOLT, O. y MUTANEN, M., 2014. DNA barcoding as a screening tool for cryptic diversity: an example from *Caryocolum*, with description of a new species (Lepidoptera, Gelechiidae). *ZooKeys*, vol. 404, pp. 91-111. ISSN 1313-2970.
- IQBAL, M.A., 2015. An assessment of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) potential as a grain crop on marginal lands in Pakistan. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, vol. 15, no. 1, pp. 16-23. ISSN 1818-6769.
- IVANOVA, N.V., DEWAARD, J.R. y HEBERT, P.D.N., 2006. An inexpensive, automation-friendly protocol for recovering high-quality DNA. *Molecular Ecology Notes*, vol. 6, no. 4, pp. 998-1002. ISSN 14718278.
- JACOBSEN, S.-E., 2003. The worldwide potential for quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Food Reviews International*, vol. 19, no. 1-2, pp. 167-177. ISSN 8755-9129.
- JACOBSEN, S.E., MUJICA, A. y ORTIZ, R., 2003. The global potential for quinoa and other andean crops. *Food Reviews International*, vol. 19, no. 1-2, pp. 139-148. ISSN 8755-9129.
- JANCUROVÁ, M., MINAROVÍČOVÁ, L. y DANDÁR, A., 2009. Quinoa - a review. *Czech Journal of Food Sciences*, vol. 27, no. 2, pp. 71-79. ISSN 1212-1800.
- JANKIELSOHN, A., 2018. The importance of insects in agricultural ecosystems. *Advances in Entomology*, vol. 6, no. 2, pp. 62-73. ISSN 2331-1991.
- JENDEK, E., GREBENNIKOV, V.V. y BOCAK, L., 2015. Undetected for a century: Palaearctic *Agrilus ribesi* Schaefer (Coleoptera: Buprestidae) on currant in North America, with adult morphology, larval biology and DNA barcode. *Zootaxa*, vol. 4034, no. 1, pp. 112-126. ISSN 1175-5334.
- JIANG, F., JIN, Q., LIANG, L., ZHANG, A.B. y LI, Z.H., 2014. Existence of species complex largely reduced barcoding success for invasive species of Tephritidae: a case study in *Bactrocera* spp. *Molecular Ecology Resources*, vol. 14, no. 6, pp. 1114-1128. ISSN 1755098X.
- JIN, X., YANG, G., XU, X., YANG, H., FENG, H., LI, Z., SHEN, J., ZHAO, C. y LAN, Y., 2015. Combined multi-temporal optical and radar parameters for estimating LAI and biomass in winter wheat using HJ and RADARSAR-2 data. *Remote Sensing*, vol. 7, no. 10, pp. 13251-13272. ISSN 2072-4292.
- JONES, M., GHOORAH, A. y BLAXTER, M., 2011. jMOTU and Taxonator: turning DNA barcode sequences into annotated operational taxonomic units. *PLoS ONE*, vol. 6, no. 4, pp. e19259. ISSN 1932-6203.
- JONES, Y.L., PETERS, S.M., WELAND, C., IVANOVA, N.V. y YANCY, H.F., 2013. Potential use of DNA barcodes in regulatory science: identification of the U.S. Food and Drug Administration's «Dirty 22» contributors to the spread of foodborne pathogens. *Journal of Food Protection*, vol. 76, no. 1, pp. 144-149. ISSN 1944-9097.

- JÖRGER, K.M. y SCHRÖDL, M., 2013. How to describe a cryptic species? Practical challenges of molecular taxonomy. *Frontiers in Zoology*, vol. 10, no. 1, pp. 1-27. ISSN 1742-9994.
- KANG, T.H., LEE, K.-S. y LEE, H.-S., 2015. DNA barcoding of the Korean *Lymantria* Hübner, 1819 (Lepidoptera: Erebidae: Lymantriinae) for quarantine inspection. *Journal of Economic Entomology*, vol. 108, no. 4, pp. 1596-1611. ISSN 0022-0493.
- KARTHIKA, P., KRISHNAVENI, N., VADIVALAGAN, C., MURUGAN, K., NICOLETTI, M. y BENELLI, G., 2016. DNA barcoding and evolutionary lineage of 15 insect pests of horticultural crops in South India. *Karbala International Journal of Modern Science*, vol. 2, no. 3, pp. 156-168. ISSN 2405609X.
- KATOH, K. y STANDLEY, D.M., 2013. MAFFT: Multiple sequence alignment software Version 7: Improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution*, vol. 30, no. 4, pp. 772-780. ISSN 0737-4038.
- KEKKONEN, M. y HEBERT, P.D.N., 2014. DNA barcode-based delineation of putative species: efficient start for taxonomic workflows. *Molecular Ecology Resources*, vol. 14, no. 4, pp. 706-715. ISSN 1755098X.
- KEW, R.B.G., 2017. Plant Health - State of Research. [en línea]. London: Kew Royal Botanical Gardens. [Consulta: 20 setiembre 2018]. State of the World's Plants 2017. Disponible en: <https://stateoftheworldsplants.org/2017/>.
- KHAMIS, F.M., MASIGA, D.K., MOHAMED, S.A., SALIFU, D., DE MEYER, M. y EKESI, S., 2012. Taxonomic identity of the invasive fruit fly pest, *Bactrocera invadens*: concordance in morphometry and DNA barcoding. *PLoS ONE*, vol. 7, no. 9, pp. e44862. ISSN 1932-6203.
- KIM, K.C., 1993. Biodiversity, conservation and inventory: why insects matter. *Biodiversity and Conservation*, vol. 2, no. 3, pp. 191-214. ISSN 0960-3115.
- KIMURA, M., 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, vol. 16, no. 2, pp. 111-120. ISSN 0022-2844.
- KONISHI, Y., HIRANO, S., TSUBOI, H. y WADA, M., 2004. Distribution of minerals in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) seeds. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, vol. 68, no. 1, pp. 231-234. ISSN 0916-8451.
- KRITICOS, D.J., OTA, N., HUTCHISON, W.D., BEDDOW, J., WALSH, T., TAY, W.T., BORCHERT, D.M., PAULA-MOREAS, S.V., CZEPAK, C. y ZALUCKI, M.P., 2015. The potential distribution of invading *Helicoverpa armigera* in North America: is it just a matter of time? *PLOS ONE*, vol. 10, no. 3, pp. e0119618. ISSN 1932-6203.
- KROGMANN, L. y HOLSTEIN, J., 2010. Preserving and Specimen Handling: Insects and other Invertebrates. En: J. EYMANN, J. DEGREEF, C. HÄUSER, J.C. MONJE, Y. SAMYN y D. VANDENSPIEGEL (eds.), *Manual on Field Recording Techniques and Protocols for All Taxa Biodiversity Inventories* [en línea]. Belgium: Abc Taxa, pp. 463-481. [Consulta: 15 agosto 2018]. Disponible en: [http://www.abctaxa.be/volumes/volume-8-manual-atbi/chpater-18/Chapter\\_18.pdf](http://www.abctaxa.be/volumes/volume-8-manual-atbi/chpater-18/Chapter_18.pdf).

- KUMAR, S., STECHER, G. y TAMURA, K., 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, vol. 33, no. 7, pp. 1870-1874. ISSN 0737-4038.
- KVIST, S., 2013. Barcoding in the dark? A critical view of the sufficiency of zoological DNA barcoding databases and a plea for broader integration of taxonomic knowledge. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, vol. 69, no. 1, pp. 39-45. ISSN 10557903.
- KWONG, S., SRIVATHSAN, A. y MEIER, R., 2012. An update on DNA barcoding: low species coverage and numerous unidentified sequences. *Cladistics*, vol. 28, no. 6, pp. 639-644. ISSN 07483007.
- LAFONTAINE, J.D. y SULLIVAN, J.B., 2009. A review of the genus *Megalographa* Lafontaine and Poole (Lepidoptera: Noctuidae: Plusiinae) with the description of a new species from Costa Rica. *Insecta Mundi*, vol. 0077, pp. 1-10. ISSN 0749-6737.
- LAMMERS, Y., PEELEN, T., VOS, R.A. y GRAVENDEEL, B., 2014. The HTS barcode checker pipeline, a tool for automated detection of illegally traded species from high-throughput sequencing data. *BMC Bioinformatics*, vol. 15, no. 1, pp. 1-8. ISSN 1471-2105.
- LANDRY, J.-F. y LANDRY, B., 1994. A technique for setting and mounting microlepidoptera. *Journal of the Lepidopterists' Society*, vol. 48, pp. 205-227. ISSN 0024-0966.
- LATIF, A., 1949. The taxonomic status of *Drosicha stabbing*, Green, and *Drosicha mangiferae*, Green (Hem., Coccid.). *Bulletin of Entomological Research*, vol. 40, no. 3, pp. 351-354. ISSN 0007-4853.
- LATTKE, J.E., 2000. Specimen processing: building and curating an ant collection. En: D. AGOSTI, J.D. MAJER, L.E. ALONSO y T.R. SCHULTZ (eds.), *Ants: Standar Methods for Measuring and Monitoring Biodiversity*. Washington, USA: Smithsonian Institution Press, pp. 155-171. ISBN 1-56098-885-1.
- LAVINIA, P.D., NÚÑEZ BUSTOS, E.O., KOPUCHIAN, C., LIJTMAR, D.A., GARCÍA, N.C., HEBERT, P.D.N. y TUBARO, P.L., 2017. Barcoding the butterflies of southern South America: Species delimitation efficacy, cryptic diversity and geographic patterns of divergence. *PLOS ONE*, vol. 12, no. 10, pp. e0186845. ISSN 1932-6203.
- LEE, W., PARK, J., LEE, G.-S., LEE, S. y AKIMOTO, S., 2013. Taxonomic status of the *Bemisia tabaci* complex (Hemiptera: Aleyrodidae) and reassessment of the number of its constituent species. *PLoS ONE*, vol. 8, no. 5, pp. e63817. ISSN 1932-6203.
- LI, Y., DUAN, X., QIAO, X., LI, X., WANG, K., MEN, Q. y CHEN, M., 2015. Mitochondrial DNA revealed the extent of genetic diversity and invasion origin of populations from two separate invaded areas of a newly invasive pest, *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae) in China. *Bulletin of Entomological Research*, vol. 105, no. 4, pp. 485-496. ISSN 0007-4853.
- LIEBHOLD, A.M., MCCULLOUGH, D.G., BLACKBURN, L.M., FRANKEL, S.J., VON HOLLE, B. y AUKEMA, J.E., 2013. A highly aggregated geographical distribution of forest pest invasions in the USA. *Diversity and Distributions*, vol. 19, no. 9, pp. 1208-1216. ISSN 13669516.

- MACLEOD, N., BENFIELD, M. y CULVERHOUSE, P., 2010. Time to automate identification. *Nature*, vol. 467, no. 7312, pp. 154-155. ISSN 0028-0836.
- MALLY, R., KORYCINSKA, A., AGASSIZ, D.J.L., HALL, J., HODGETTS, J. y NUSS, M., 2015. Discovery of an unknown diversity of *Leucinodes* species damaging Solanaceae fruits in sub-Saharan Africa and moving in trade (Insecta, Lepidoptera, Pyraloidea). *ZooKeys*, vol. 472, pp. 117-162. ISSN 1313-2970.
- MARADINI FILHO, A.M., RIBEIRO PIROZI, M., BORGES, J.T., PINHEIRO SANT'ANA, H.M., PAES CHAVES, J.B. y DOS REIS COIMBRA, J.S., 2015. Quinoa: Nutritional, functional, and antinutritional aspects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 57, no. 8, pp. 1618-1630. ISSN 1040-8398.
- MASTRANGELO, T., PAULO, D.F., BERGAMO, L.W., MORAIS, E.G.F., SILVA, M., BEZERRA-SILVA, G. y AZEREDO-ESPIN, A.M.L., 2014. Detection and genetic diversity of a Heliothine invader (Lepidoptera: Noctuidae) from north and northeast of Brazil. *Journal of Economic Entomology*, vol. 107, no. 3, pp. 970-980. ISSN 00220493.
- MATIACEVICH, S.B., CASTELLIÓN, M.L., MALDONADO, S.B. y BUERA, M.P., 2006. Water-dependent thermal transitions in quinoa embryos. *Thermochimica Acta*, vol. 448, no. 2, pp. 117-122. ISSN 00406031.
- MEIER, R., SHIYANG, K., VAIDYA, G. y NG, P.K.L., 2006. DNA barcoding and taxonomy in Diptera: a tale of high intraspecific variability and low identification success. *Systematic Biology*, vol. 55, no. 5, pp. 715-728. ISSN 1076-836X.
- MEIER, R., ZHANG, G. y ALI, F., 2008. The use of mean instead of smallest interspecific distances exaggerates the size of the "barcoding gap" and leads to misidentification. *Systematic Biology*, vol. 57, no. 5, pp. 809-813. ISSN 1076-836X.
- MENARD, K.L., 2015. A review of the genus *Spanagonicus* Berg (Hemiptera: Miridae: Phylinae: Nasocorini) with the description of novel antennal characters, the description of a new species from Central America, and a key to currently known taxa. *Zootaxa*, vol. 3973, no. 1, pp. 139. ISSN 1175-5334.
- MEYER, C.P. y PAULAY, G., 2005. DNA barcoding: error rates based on comprehensive sampling. *PLoS Biology*, vol. 3, no. 12, pp. e422. ISSN 1545-7885.
- MIRAB-BALOU, M., MINAEI, K. y CHEN, X., 2013. An illustrated key to the genera of Thripinae (Thysanoptera, Thripidae) from Iran. *ZooKeys*, vol. 317, pp. 27-52. ISSN 1313-2970.
- MITCHELL, A. y GOPURENKO, D., 2016. DNA barcoding the Heliothinae (Lepidoptera: Noctuidae) of Australia and utility of DNA barcodes for pest identification in *Helicoverpa* and relatives. *PLOS ONE*, vol. 11, no. 8, pp. e0160895. ISSN 1932-6203.
- MUTANEN, M., HAUSMANN, A., HEBERT, P.D.N., LANDRY, J.-F., DE WAARD, J.R. y HUEMER, P., 2012. Allopatry as a gordian knot for taxonomists: patterns of DNA barcode divergence in Arctic-Alpine Lepidoptera. *PLoS ONE*, vol. 7, no. 10, pp. e47214. ISSN 1932-6203.
- NAGOSHI, R.N., BRAMBILA, J. y MEAGHER, R.L., 2011. Use of DNA barcodes to identify invasive armyworm *Spodoptera* species in Florida. *Journal of Insect Science*, vol. 11, no. 154, pp. 1-11. ISSN 1536-2442.

- NAGOSHI, R.N., PARAISO, O., BRAMBILA, J. y KAIRO, M.T., 2012. Assessing the usefulness of DNA barcoding to identify *Oxycarenus hyalinipennis* (Hemiptera: Oxycarenidae) in Florida, a potentially invasive pest of cotton. *Florida Entomologist*, vol. 95, no. 4, pp. 1174-1181. ISSN 0015-4040.
- NANNEY, D.L., 1982. Genes and phenes in Tetrahymena. *BioScience*, vol. 32, no. 10, pp. 783-788. ISSN 00063568.
- OGUNGBENLE, H.N., 2003. Nutritional evaluation and functional properties of quinoa (*Chenopodium quinoa*) flour. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, vol. 54, no. 2, pp. 153-158. ISSN 0963-7486.
- OKIWELU, S. y NOUTCHA, M.A.E., 2014. The evolution of integrative insect systematics. *Annual Research & Review in Biology*, vol. 4, no. 14, pp. 2302-2317. ISSN 2347565X.
- ONAH, I.E., EYO, J.E. y TAYLOR, D., 2015. Molecular identification of Tephritid fruit flies (Diptera: Tephritidae) infesting sweet oranges in Nsukka Agro-Ecological Zone, Nigeria, based on PCR-RFLP of COI gene and DNA barcoding. *African Entomology*, vol. 23, no. 2, pp. 342-347. ISSN 1021-3589.
- OVALLE, T.M., PARSA, S., HERNÁNDEZ, M.P. y BECERRA LOPEZ-LAVALLE, L.A., 2014. Reliable molecular identification of nine tropical whitefly species. *Ecology and Evolution*, vol. 4, no. 19, pp. 3778-3787. ISSN 20457758.
- PALL, J.L., KIHN, R.G., DIEZ, F. y COSCARÓN, M. del C., 2016. A review of genus *Nysius* Dallas in Argentina (Hemiptera: Heteroptera: Orsillidae). *Zootaxa*, vol. 4132, no. 2, pp. 221-234. ISSN 1175-5334.
- PANIZZI, A.R. y GRAZIA, J., 2015. *True bugs (heteroptera) of the neotropics*. 1. New York, NY: Springer Netherlands. Entomology in Focus, 2. ISBN 978-94-017-9860-0.
- PANTE, E., SCHOELINCK, C. y PUILLANDRE, N., 2015. From integrative taxonomy to species description: one step beyond. *Systematic Biology*, vol. 64, no. 1, pp. 152-160. ISSN 1076-836X.
- PARADIS, E., CLAUDE, J. y STRIMMER, K., 2004. APE: Analyses of phylogenetics and evolution in R language. *Bioinformatics*, vol. 20, no. 2, pp. 289-290. ISSN 1367-4803.
- PIFFARETTI, J., ROSSI, J.-P., VANLERBERGHE-MASUTTI, F., GENSON, G., D'ACIER, A.C. y JOUSSELIN, E., 2013. Molecular identification and ecological characteristics of two cryptic lineages within a cosmopolitan aphid pest, *Brachycaudus helichrysi* (Hemiptera: Aphididae). *Applied Entomology and Zoology*, vol. 48, no. 2, pp. 155-164. ISSN 0003-6862.
- PINTO, F., MATTOS, M., SILVA, F., ROCHA, S. y ELLIOT, S., 2017. The spread of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) and coexistence with *Helicoverpa zea* in southeastern Brazil. *Insects*, vol. 8, no. 3, pp. 87. ISSN 2075-4450.
- PINTO, J.D. y BOLOGNA, M.A., 1999. The new world genera of Meloidae (Coleoptera): a key and synopsis. *Journal of Natural History*, vol. 33, no. 4, pp. 569-620. ISSN 0022-2933.



- PINTO, J.D. y BOLOGNA, M.A., 2016. Beetles (Coleoptera) of Peru. Survey of the Families. Meloidae Gyllenhal, 1810. *Journal of the Kansas Entomological Society*, vol. 89, no. 2, pp. 202-209. ISSN 0022-8567.
- POGUE, M.G., 2002. *A World Revision of the Genus Spodoptera Guenée (Lepidoptera: Noctuidae)*. Philadelphia, USA: The American Entomological Society of Philadelphia. Memoirs of The American Entomological Society, 43.
- POGUE, M.G., 2004. A new synonym of *Helicoverpa zea* (Boddie) and differentiation of adult males of *H. zea* and *H. armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae: Heliothinae). *Annals of the Entomological Society of America*, vol. 97, no. 6, pp. 1222-1226. ISSN 00138746.
- POGUE, M.G., 2013. Revised status of *Chloridea* Duncan and Westwood, 1841, for the *Heliothis virescens* species group (Lepidoptera: Noctuidae: Heliothinae) based on morphology and three genes. *Systematic Entomology*, vol. 38, no. 3, pp. 523-542. ISSN 03076970.
- POGUE, M.G., 2014. A review of the *Copitarsia decolora* (Guenée) (Lepidoptera: Noctuidae) species complex with the description of a new species from Chile and Argentina. *Neotropical Entomology*, vol. 43, no. 2, pp. 143-153. ISSN 1519-566X.
- POGUE, M.G. y SIMMONS, R.B., 2008. A new pest species of *Copitarsia* (Lepidoptera: Noctuidae) from the Neotropical region feeding on Asparagus and cut flowers. *Annals of the Entomological Society of America*, vol. 101, no. 4, pp. 743-762. ISSN 0013-8746.
- QIAO, W., WAN, F., ZHANG, A., MIN, L. y ZHANG, G., 2012. Application of DNA barcoding technology for species identification of common thrips (Insecta: Thysanoptera) in China. *Acta Entomologica Sinica*, vol. 55, no. 3, pp. 344-356. ISSN 0454-6296.
- R CORE TEAM, 2018. *R: A Language and Environment for Statistical Computing* [en línea]. en. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. Disponible en: <https://www.R-project.org>.
- RAKAUSKAS, R. y BAŠILOVA, J., 2013. Barcoding of aphids (Hemiptera, Aphididae and Adelgidae): proper usage of the global data set. *Molecular Ecology Resources*, vol. 13, no. 1, pp. 6-9. ISSN 1755098X.
- RAMBAUT, A., DRUMMOND, A.J., XIE, D., BAELE, G. y SUCHARD, M.A., 2018. Posterior summarization in bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic Biology*, vol. 67, no. 5, pp. 901-904. ISSN 1063-5157.
- RASMUSSEN, C., JACOBSEN, S.-E. y LAGNAOUI, A., 2001. Las polillas de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) en el Perú: *Eurysacca* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Revista Peruana de Entomología*, vol. 42, pp. 57-59.
- RASMUSSEN, C., LAGNAOUI, A. y ESBJERG, P., 2003. Advances in the knowledge of quinoa pests. *Food Reviews International*, vol. 19, no. 1-2, pp. 61-75. ISSN 8755-9129.
- RATNASINGHAM, S. y HEBERT, P.D.N., 2007. BOLD: The Barcode of Life Data System (<http://www.barcodinglife.org>). *Molecular Ecology Notes*, vol. 7, no. 3, pp. 355-364.

- RATNASINGHAM, S. y HEBERT, P.D.N., 2013. A DNA-based registry for all animal species: the barcode index number (BIN) system. *PLoS ONE*, vol. 8, no. 8, pp. e66213. ISSN 1932-6203.
- REBIJITH, K.B., ASOKAN, R., KRISHNA, V., RANJITHA, H.H., KRISHNA KUMAR, N.K. y RAMAMURTHY, V.V., 2014. DNA barcoding and elucidation of cryptic diversity in thrips (Thysanoptera). *Florida Entomologist*, vol. 97, no. 4, pp. 1328-1347. ISSN 0015-4040.
- REPO-CARRASCO, R., ESPINOZA, C. y JACOBSEN, S.-E., 2003. Nutritional value and use of the Andean crops quinoa (*Chenopodium quinoa*) and kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*). *Food Reviews International*, vol. 19, no. 1-2, pp. 179-189. ISSN 8755-9129.
- RIEDEL, A., SAGATA, K., SUHARDJONO, Y.R., TÄNZLER, R. y BALKE, M., 2013. Integrative taxonomy on the fast track - towards more sustainability in biodiversity research. *Frontiers in Zoology*, vol. 10, no. 1, pp. 1-9. ISSN 1742-9994.
- ROBE, L.J., DE RÉ, F.C., LUDWIG, A. y LORETO, E.L.S., 2013. The *Drosophila flavopilosa* species group (Diptera, Drosophilidae): An array of exciting questions. *Fly*, vol. 7, no. 2, pp. 59-69. ISSN 1933-6934. DOI 10.4161/fly.23923.
- RODERICK, G.K., HUFBAUER, R. y NAVAJAS, M., 2012. Evolution and biological control. *Evolutionary Applications*, vol. 5, no. 5, pp. 419-423. ISSN 17524571.
- ROUGERIE, R., KITCHING, I.J., HAXAIRE, J., MILLER, S.E., HAUSMANN, A. y HEBERT, P.D.N., 2014. Australian Sphingidae – DNA barcodes challenge current species boundaries and distributions. *PLoS ONE*, vol. 9, no. 7, pp. e101108. ISSN 1932-6203.
- SAN BLAS, G., 2014. *Agrotis* Ochsenheimer (Lepidoptera, Noctuidae): a systematic analysis of South American species. *Zootaxa*, vol. 3771, no. 1, pp. 1-64. ISSN 1175-5334.
- SAN BLAS, G., 2015. A morphological phylogeny of *Agrotis* Ochsenheimer (Lepidoptera, Noctuidae), with emphasis on the South American species. *Zoologica Scripta*, vol. 44, no. 2, pp. 153-164. ISSN 03003256.
- SARAVIA, R., PLATA, G. y GANDARILLAS, A., 2014. *Plagas y Enfermedades del Cultivo de Quinoa*. Cochabamba, BO: Fundación PROINPA. ISBN 978-99954-846-5-1.
- SCHEFFER, S.J., LEWIS, M.L., GAIMARI, S.D. y REITZ, S.R., 2014. Molecular survey for the invasive leafminer pest *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae) in California uncovers only the native pest *Liriomyza langei*. *Journal of Economic Entomology*, vol. 107, no. 5, pp. 1959-1964. ISSN 00220493.
- SCHOWALTER, T.D., NORIEGA, J.A. y TSCHARNTKE, T., 2018. Insect effects on ecosystem services—Introduction. *Basic and Applied Ecology*, vol. 26, pp. 1-7. ISSN 14391791.
- SCHUTZE, M.K., AKETARAWONG, N., AMORNSAK, W., ARMSTRONG, K.F., AUGUSTINOS, A.A., BARR, N., BO, W., BOURTZIS, K., BOYKIN, L.M., CÁCERES, C., CAMERON, S.L., CHAPMAN, T.A., CHINVINIJKUL, S., CHOMIĆ, A., DE MEYER, M., DROSOPOULOU, E., ENGLEZOU, A., EKESI, S., GARIOU-PAPALEXIOU, A., GEIB, S.M., HAILSTONES, D., HASANUZZAMAN, M.,

- HAYMER, D., HEE, A.K.W., HENDRICH, J., JESSUP, A., JI, Q., KHAMIS, F.M., KROSCHE, M.N., LEBLANC, L., MAHMOOD, K., MALACRIDA, A.R., MAVRAGANITSIPIDOU, P., MWATAWALA, M., NISHIDA, R., ONO, H., REYES, J., RUBINOFF, D., SAN JOSE, M., SHELLY, T.E., SRIKACHAR, S., TAN, K.H., THANAPHUM, S., HAQ, I., VIJAYSEGARAN, S., WEE, S.L., YESMIN, F., ZACHAROPOULOU, A. y CLARKE, A.R., 2015. Synonymization of key pest species within the *Bactrocera dorsalis* species complex (Diptera: Tephritidae): taxonomic changes based on a review of 20 years of integrative morphological, molecular, cytogenetic, behavioural and chemoecological data. *Systematic Entomology*, vol. 40, no. 2, pp. 456-471. ISSN 03076970.
- SCUDDER, G.G.E., 2017. The Importance of Insects. En: R.G. FOOTITT y P.H. ADLER (eds.), *Insect Biodiversity: Science and Society*. 2nd ed. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, pp. 9-43. ISBN 978-1-118-94556-8.
- SETHUSA, M.T., MILLAR, I.M., YESSOUFOU, K., JACOBS, A., VAN DE BANK, M. y VAN DER BANK, H., 2014. DNA barcode efficacy for the identification of economically important scale insects (Hemiptera: Coccoidea) in South Africa. *African Entomology*, vol. 22, no. 2, pp. 257-266. ISSN 1021-3589.
- SHETH, B.P. y THAKER, V.S., 2017. DNA barcoding and traditional taxonomy: an integrated approach for biodiversity conservation. *Genome*, vol. 60, no. 7, pp. 618-628. ISSN 0831-2796.
- SHIAO, S.-F., 2004. Morphological diagnosis of six *Liriomyza* species (Diptera: Agromyzidae) of quarantine importance in Taiwan. *Applied Entomology and Zoology*, vol. 39, no. 1, pp. 27-39. ISSN 0003-6862.
- SHIN, S., JUNG, S., HELLER, K., MENZEL, F., HONG, T.K., SHIN, J.S., LEE, S.H., LEE, H. y LEE, S., 2014. DNA barcoding of *Bradysia* (Diptera: Sciaridae) for detection of the immature stages on agricultural crops. *Journal of Applied Entomology*, vol. 139, no. 8, pp. 638-645. ISSN 09312048.
- SHIN, S., JUNG, S., LEE, H. y LEE, S., 2013. Molecular identification of dipteran pests (Diptera: Sciaroidea) from shiitake mushroom. *Molecular Ecology Resources*, vol. 13, no. 2, pp. 200-209. ISSN 1755098X.
- SILVEIRA, L.C.P. y HARO, M.M., 2016. Fast slide preparation for thrips (Thysanoptera) routine identifications. *European Journal of Entomology*, vol. 113, pp. 403-408. ISSN 12105759.
- SMALL, E., 2013. Quinoa – is the United Nations' featured crop of 2013 bad for biodiversity? *Biodiversity*, vol. 14, no. 3, pp. 169-179. ISSN 1488-8386.
- STAMATAKIS, A., 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics*, vol. 30, no. 9, pp. 1312-1313. ISSN 1367-4803.
- TAYLOR, H.R. y HARRIS, W.E., 2012. An emergent science on the brink of irrelevance: a review of the past 8 years of DNA barcoding. *Molecular Ecology Resources*, vol. 12, no. 3, pp. 377-388. ISSN 1755098X.
- TELFER, A., YOUNG, M., QUINN, J., PEREZ, K., SOBEL, C., SONES, J., LEVESQUE-BEAUDIN, V., DERBYSHIRE, R., FERNANDEZ-TRIANA, J., ROUGERIE, R., THEVANAYAGAM, A., BOSKOVIC, A., BORISENKO, A., CADEL, A., BROWN, A.,

- PAGES, A., CASTILLO, A., NICOLAI, A., GLENN MOCKFORD, B.M., BUKOWSKI, B., WILSON, B., TROJAHN, B., LACROIX, C.A., BRIMBLECOMBE, C., HAY, C., HO, C., STEINKE, C., WARNE, C., GARRIDO CORTES, C., ENGELKING, D., WRIGHT, D., LIJTMAER, D., GASCOIGNE, D., HERNANDEZ MARTICH, D., MORNINGSTAR, D., NEUMANN, D., STEINKE, D., MARCO DEBRUIN, D.D., DOBIAS, D., SEARS, E., RICHARD, E., DAMSTRA, E., ZAKHAROV, E., LABERGE, F., COLLINS, G., BLAGOEV, G., GRAINGE, G., ANSELL, G., MEREDITH, G., HOGG, I., MCKEOWN, J., TOPAN, J., BRACEY, J., GUENTHER, J., SILLS-GILLIGAN, J., ADDESI, J., PERSI, J., LAYTON, K., D'SOUZA, K., DORJI, K., GRUNDY, K., NGHIDINWA, K., RONNENBERG, K., LEE, K.M., XIE, L., LU, L., PENEV, L., GONZALEZ, M., ROSATI, M., KEKKONEN, M., KUZMINA, M., ISKANDAR, M., MUTANEN, M., FATAHI, M., PENTINSAARI, M., BAUMAN, M., NIKOLOVA, N., IVANOVA, N., JONES, N., WEERASURIYA, N., MONKHOUSE, N., LAVINIA, P., JANNETTA, P., HANISCH, P., MCMULLIN, R.T., OJEDA FLORES, R., MOUTTET, R., VENDER, R., LABBEE, R., FORSYTH, R., LAUDER, R., DICKSON, R., KROFT, R., MILLER, S., MACDONALD, S., PANTHI, S., PEDERSEN, S., SOBEK-SWANT, S., NAIK, S., LIPINSKAYA, T., EAGALLE, T., DECAËNS, T., KOSUTH, T., BRAUKMANN, T., WOODCOCK, T., ROSLIN, T., ZAMMIT, T., CAMPBELL, V., DINCA, V., PENEVA, V., HEBERT, P. y DEWAARD, J., 2015. Biodiversity inventories in high gear: DNA barcoding facilitates a rapid biotic survey of a temperate nature reserve. *Biodiversity Data Journal*, vol. 3, pp. e6313. ISSN 1314-2828.
- TUISIMA CORAL, L.L. y FERNÁNDEZ CUSIMAMANI, E., 2014. An Andean ancient crop, *Chenopodium quinoa* Willd: a review. *Agricultura Tropica et Subtropica*, vol. 47, no. 4, pp. 142-146. ISSN 1801-0571.
- TYAGI, K., KUMAR, V., SINGHA, D. y CHAKRABORTY, R., 2015. Morphological and DNA barcoding evidence for invasive pest thrips, *Thrips parvispinus* (Thripidae: Thysanoptera), newly recorded from India. *Journal of Insect Science*, vol. 15, no. 1, pp. 1-4. ISSN 1536-2442.
- VAN DE VOSSENBERG, B.T.L.H., WESTENBERG, M. y BONANTS, P.J.M., 2013. DNA barcoding as an identification tool for selected EU-regulated plant pests: an international collaborative test performance study among 14 laboratories. *EPPO Bulletin*, vol. 43, no. 2, pp. 216-228. ISSN 02508052.
- VAN DER BANK, H.F., GREENFIELD, R., DARU, B.H. y YESSOUFOU, K., 2012. DNA barcoding reveals micro-evolutionary changes and river system-level phylogeographic resolution of African silver catfish, *Schilbe intermedius* (Actinopterygii: Siluriformes: Schilbeidae) from seven populations across different African river systems. *Acta Ichthyologica Et Piscatoria*, vol. 42, no. 4, pp. 307-320. ISSN 01371592.
- VAN LENTEREN, J.C., BABENDREIER, D., BIGLER, F., BURGIO, G., HOKKANEN, H.M.T., KUSKE, S., LOOMANS, A.J.M., MENZLER-HOKKANEN, I., VAN RIJN, P.C.J., THOMAS, M.B., TOMMASINI, M.G. y ZENG, Q.-Q., 2003. Environmental risk assessment of exotic natural enemies used in inundative biological control. *BioControl*, vol. 48, no. 1, pp. 3-38. ISSN 1573-8248.
- VAN TOOR, R.F., FOSTER, S.P., ANSTEAD, J.A., MITCHINSON, S., FENTON, B. y KASPROWICZ, L., 2008. Insecticide resistance and genetic composition of *Myzus*

- persicae* (Hemiptera: Aphididae) on field potatoes in New Zealand. *Crop Protection*, vol. 27, no. 2, pp. 236-247. ISSN 02612194.
- VIRGILIO, M., JORDAENS, K., BREMAN, F.C., BACKELJAU, T. y DE MEYER, M., 2012. Identifying insects with incomplete DNA barcode libraries, African fruit flies (Diptera: Tephritidae) as a test case. *PLoS ONE*, vol. 7, no. 2, pp. e31581. ISSN 1932-6203.
- WANG, L., ZHOU, X., ZHU, X. y GUO, W., 2017. Estimation of leaf nitrogen concentration in wheat using the MK-SVR algorithm and satellite remote sensing data. *Computers and Electronics in Agriculture*, vol. 140, pp. 327-337. ISSN 01681699.
- WEI, S., MIRAB-BALOU, M., SHI, B., GONG, Y., LIU, J., KANG, Z., CHEN, X. y LU, H., 2010. External morphology and molecular identification of the newly found invasive pest *Echinothrips americanus* Morgan (Thysanoptera: Thripidae) in China. *Acta Entomologica Sinica*, vol. 53, no. 6, pp. 715-720. ISSN 0454-6296.
- WILSON, J.J., 2012. DNA Barcodes for Insects. En: W.J. KRESS y D.L. ERICKSON (eds.), *DNA Barcodes*. Totowa, NJ: Humana Press, pp. 17-46. ISBN 978-1-61779-590-9.
- WILSON, J.-J., SING, K.-W. y SOFIAN-AZIRUN, M., 2013. Building a DNA barcode reference library for the true butterflies (Lepidoptera) of Peninsula Malaysia: what about the subspecies? *PLoS ONE*, vol. 8, no. 11, pp. e79969. ISSN 1932-6203.
- YABAR, E., GIANOLI, E. y ECHEGARAY, E.R., 2002. Insect pests and natural enemies in two varieties of quinoa (*Chenopodium quinoa*) at Cusco, Peru. *Journal of Applied Entomology*, vol. 126, no. 6, pp. 275-280. ISSN 0931-2048.
- YANG, H.-P., MA, C.-S., WEN, H., ZHAN, Q.-B. y WANG, X.-L., 2015. A tool for developing an automatic insect identification system based on wing outlines. *Scientific Reports*, vol. 5, no. 12786, pp. 1-11. ISSN 2045-2322.
- YE, J.-L., AN, Y.-L., QIAN, L., YANG, X.-J., XU, M., WU, C.-P., WEI, C.-Y., NIU, L., GAN, Y.-J., JIANGSU, B.Q. and I.E.-E., JILIN, B.Q. and I.E.-E., NANJING, L.C.T.H. y NANJING, U.F., 2015. Development and application of quarantine insect DNA barcoding technology. *Chinese Bulletin of Entomology*, vol. 52, no. 2, pp. 382-389.
- ZALUCKI, M.P., SHABBIR, A., SILVA, R., ADAMSON, D., SHU-SHENG, L. y FURLONG, M.J., 2012. Estimating the economic cost of one of the World's major insect pests, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae): just how long is a piece of string? *Journal of Economic Entomology*, vol. 105, no. 4, pp. 1115-1129.
- ZHANG, Z.-Q., 2013a. Animal biodiversity: An update of classification and diversity in 2013. En: Z.-Q. ZHANG (ed.), *Animal Biodiversity: An Outline of Higher-level Classification and Survey of Taxonomic Richness (Addenda 2013)*. Auckland, New Zealand: Magnolia Press, pp. 5-11. ISBN 978-1-77557-248-0.
- ZHANG, Z.-Q., 2013b. Phylum Arthropoda. En: Z.-Q. ZHANG (ed.), *Animal Biodiversity: An Outline of Higher-level Classification and Survey of Taxonomic Richness (Addenda 2013)*. Auckland, New Zealand: Magnolia Press, pp. 17-26. ISBN 978-1-77557-248-0.

## X. ANEXOS

### ANEXO 1: PRINCIPALES INSECTOS FITOFAGOS ASOCIADOS AL CULTIVO DE *Chenopodium quinoa* EN PERU.

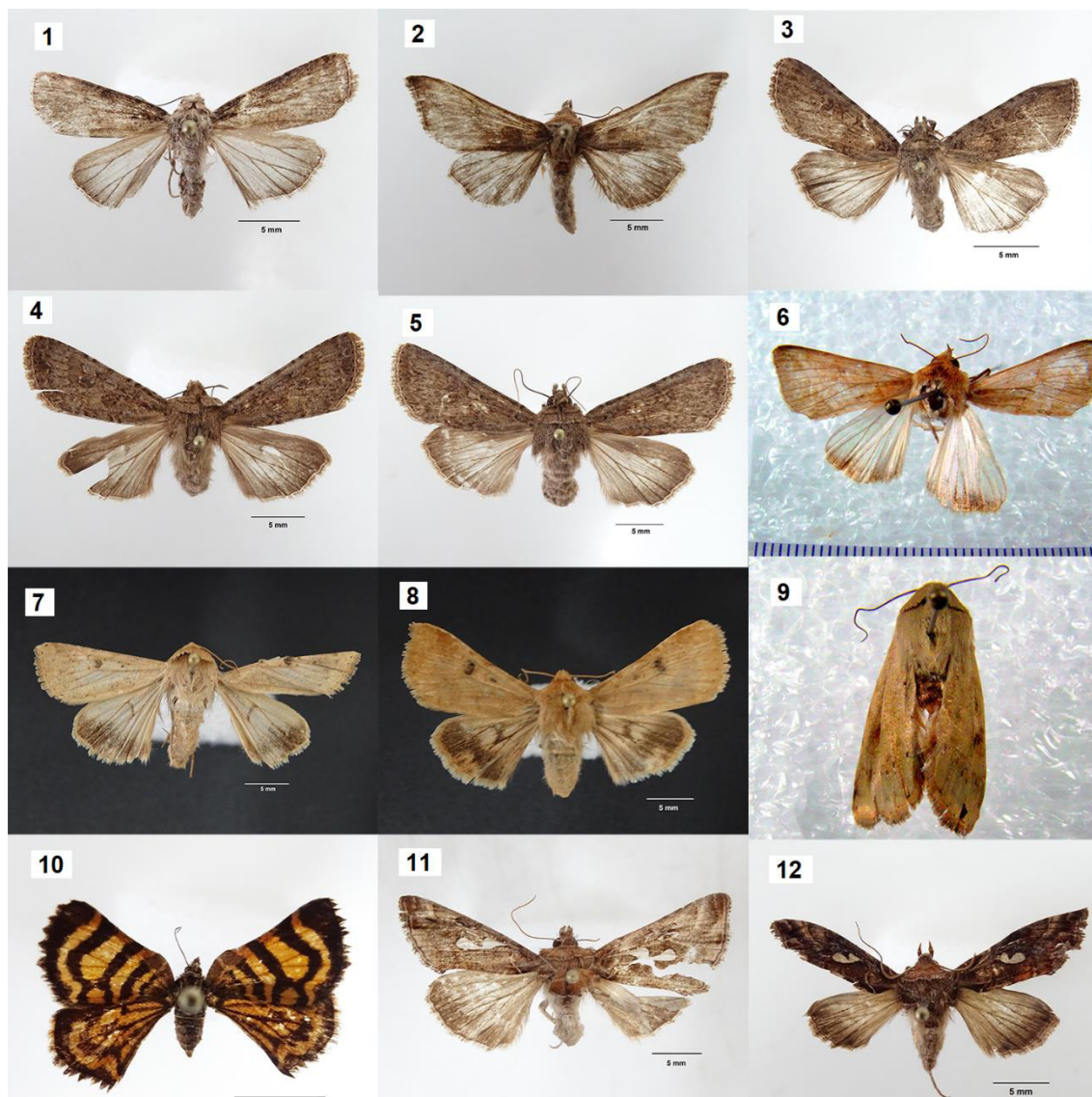


Figura 1. Insectos fitofagos asociados al cultivo de quinua, parte I: 1, *Agrotis experta*; 2, *Autoplusia egea*; 3, *Copitarsia corruda*; 4, *Copitarsia decolora*; 5, *Copitarsia naenoides*; 6, *Chloridea virescens*; 7, *Helicoverpa armígera*; 8, *Helicoverpa atacamae*; 9, *Helicoverpa zea*; 10, *Heterusia sinuosa*; 11, *Megalographa biloba*; 12, *Megalographa monoxyla*.



**ANEXO 1 (Continuación): PRINCIPALES INSECTOS FITOFAGOS ASOCIADOS AL CULTIVO DE *Chenopodium quinoa* EN PERU**

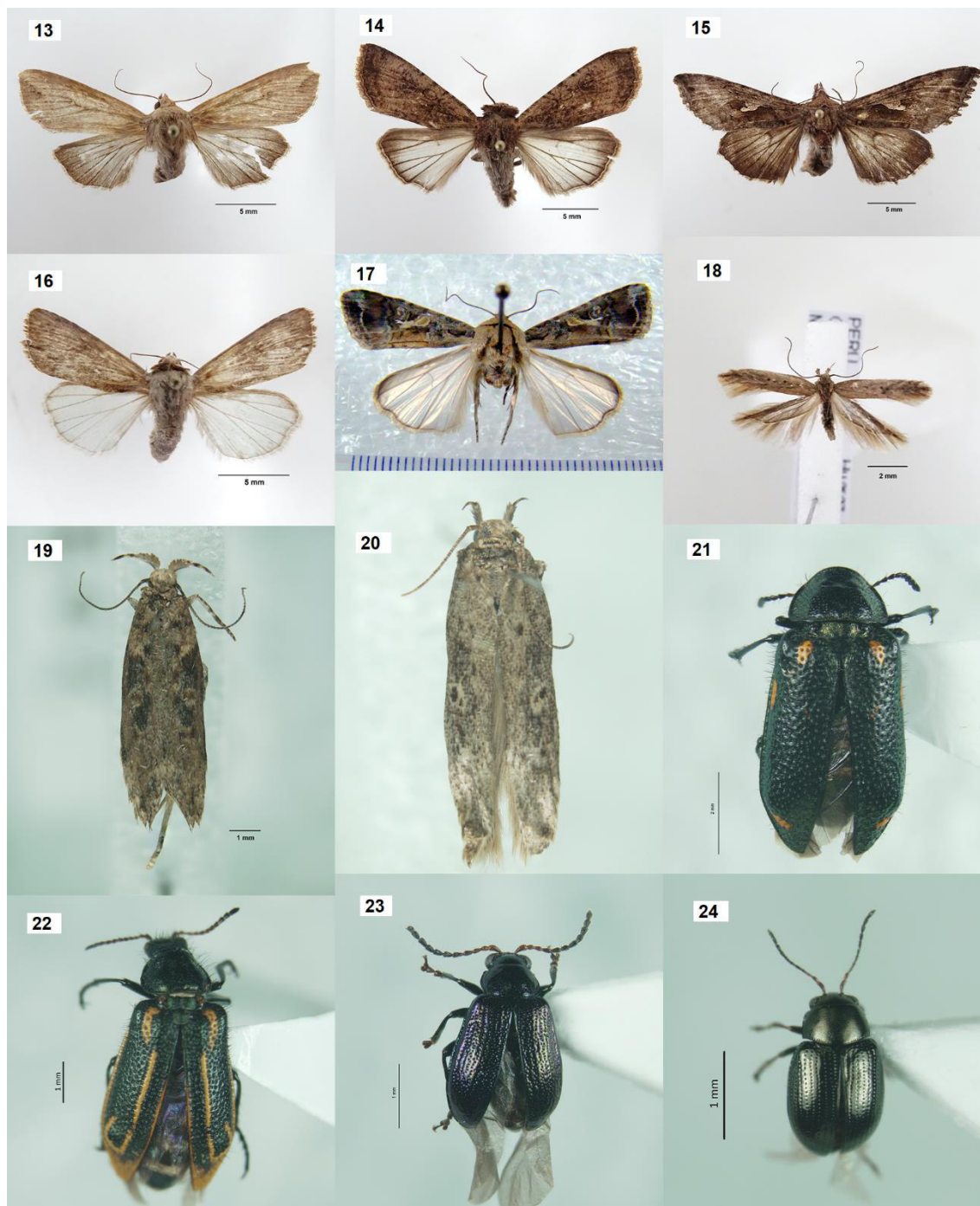


Figura 2. Insectos fitofagos asociados al cultivo de quinua, parte II: 13, *Mythimna unipuncta*; 14, *Perodroma saucia*; 15, *Rachiplusia* sp.; 16, *Spodoptera eridania*; 17, *Spodoptera frugiperda*; 18, *Eurysacca* sp.; 19, *Eurysacca melanocampta*; 20, *Eurysacca quinoa*; 21, *Astylus baeri*; 22, *Astylus subannulatus*; 23, *Centralaphthona* sp.; 24, *Chaetocnema* sp.

**ANEXO 1 (Continuacion): PRINCIPALES INSECTOS FITOFAGOS ASOCIADOS AL CULTIVO DE *Chenopodium quinoa* EN PERU**

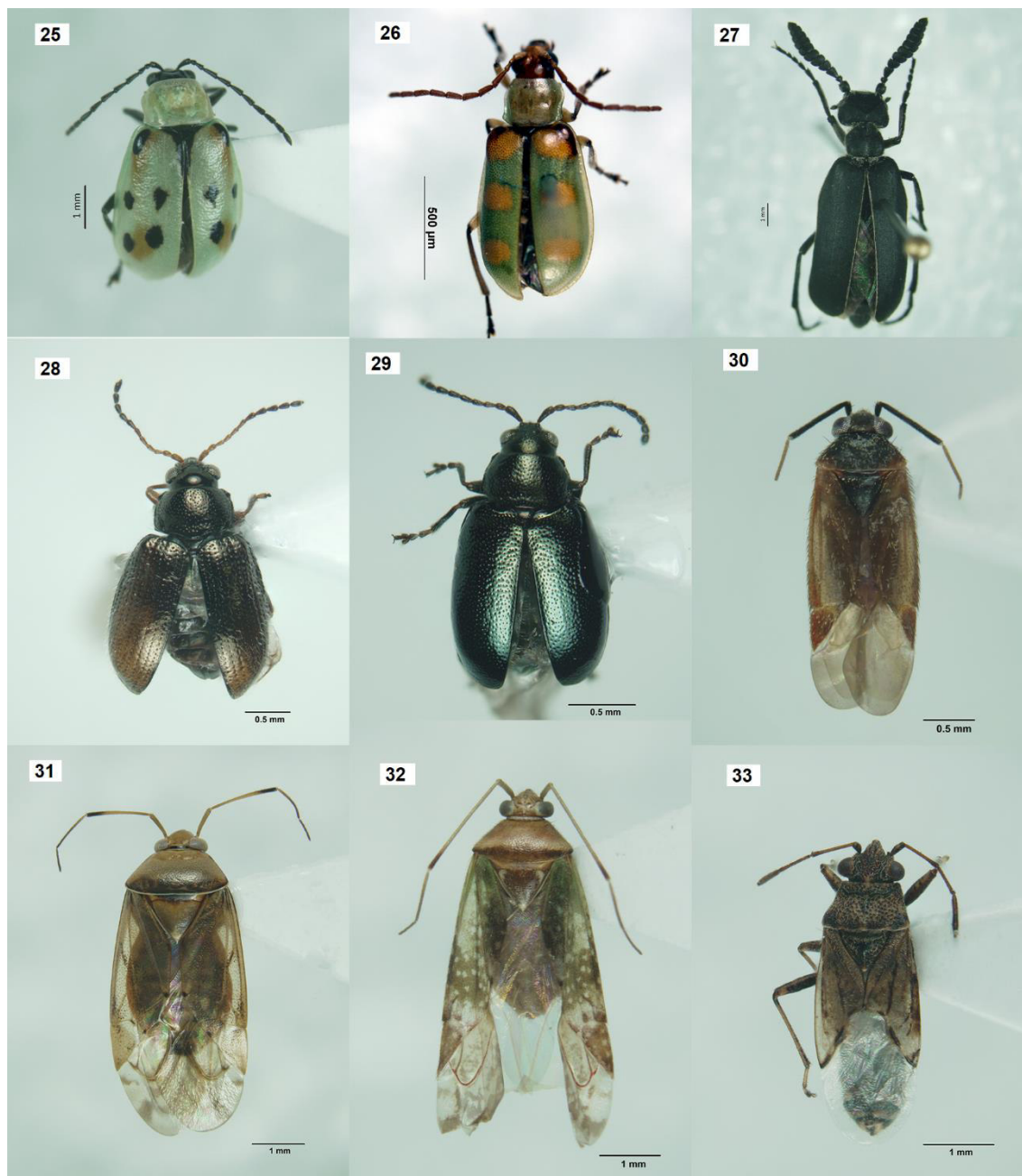


Figura 3. Insectos fitófagos asociados al cultivo de quinua, parte III: 25, *Diabrotica decempunctata*; 26, *Diabrotica speciosa*; 27, *Epicauta* sp.; 28, *Epitrix* sp.; 29, *Phyllotreta* sp.; 30, *Atractotomus* sp.; 31, *Proba californica*; 32, *Phytocoris* sp.; 33, *Nysius raphanus*.



**ANEXO 1 (Continuacion): PRINCIPALES INSECTOS FITOFAGOS ASOCIADOS AL CULTIVO DE *Chenopodium quinoa* EN PERU**

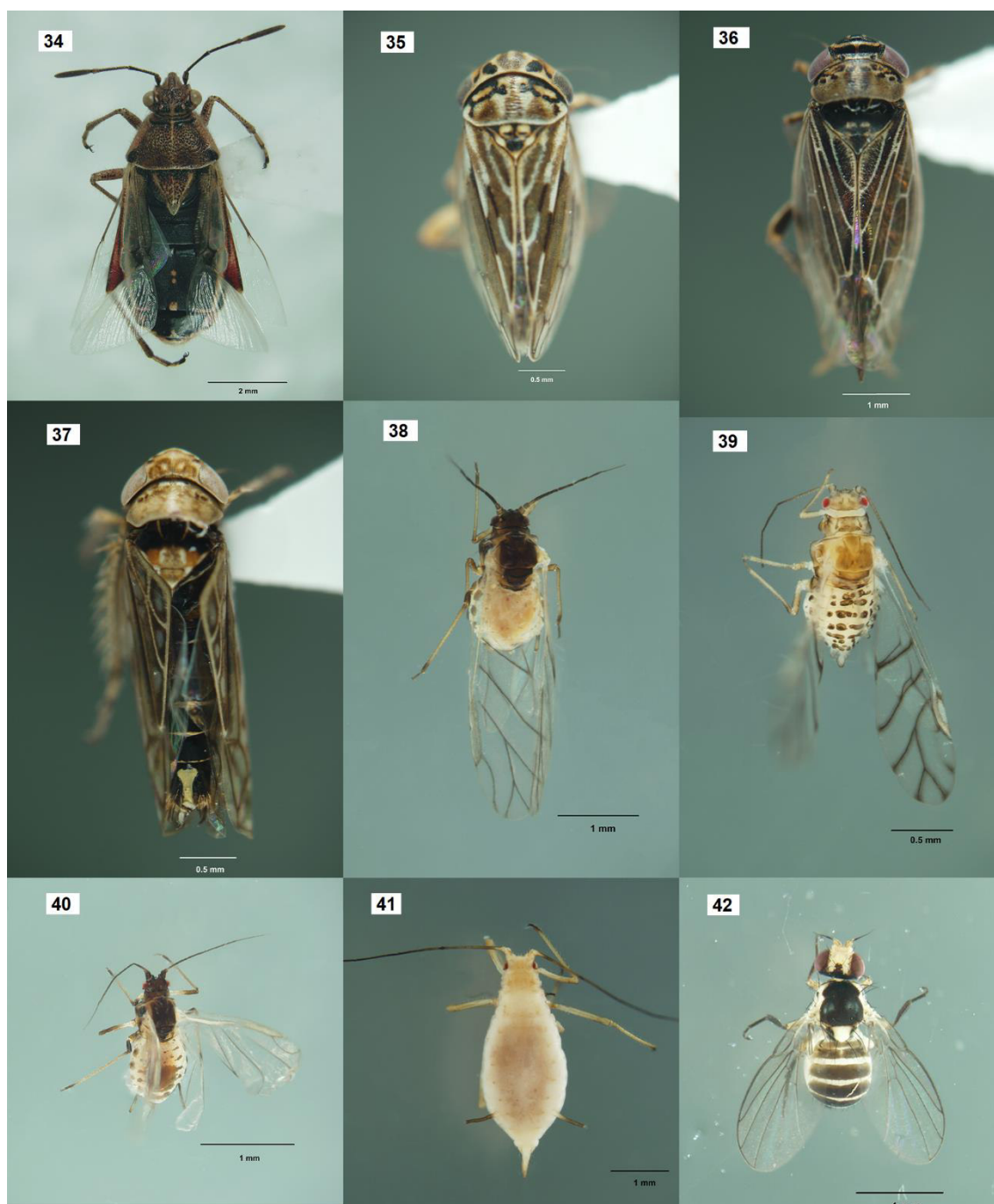


Figura 4. Insectos fitófagos asociados al cultivo de quinua, parte IV: 34, *Liorhyssus hyalinus*; 35, *Bergallia* sp.; 36, *Icaia* sp.; 37, *Paratanus* sp.; 38, *Lipahis pseudobrassicae*; 39, *Therioaphis trifolii*; 40, *Myzus persicae*; 41, *Macrosiphum euphorbiae*; 42, *Liriomyza huidobrensis*.